

Aus dem Institut für Veterinär-Anatomie, -Histologie und –Embryologie,
Fachbereich Veterinärmedizin der Justus-Liebig-Universität Gießen
Betreuer: Prof. Dr. Dr. med. vet. Stefan Arnhold

und

dem Institut I für Anatomie, Medizinische Fakultät, Universität Köln
Betreuer: Prof. Dr. med. Klaus Addicks

Untersuchungen zur Anatomie und Histologie des Verdauungstrakts von *Thamnophis sirtalis sirtalis* unter spezieller Berücksichtigung der Drüsen

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Grades eines
Dr. med.vet.
beim Fachbereich Veterinärmedizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Eingereicht von
Katja Teschner
Tierärztin aus Düsseldorf

Gießen 2009

Mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Dekan: Prof. Dr. Dr. habil. G. Baljer

Gutachter:

Prof. Dr. Dr. med. vet. Stefan Arnhold

Prof. Dr. med. Klaus Addicks

Tag der Disputation: 23.06.2009

In Liebe meiner Familie

Danksagung

Mein Dank gilt Herrn Universitätsprofessor Dr. med. K. Addicks, der mir die Möglichkeit gab, im Rahmen meiner Arbeit in seinem Institut I für Anatomie Einstieg in die anatomische Grundlagenforschung zu erhalten.

Ebenso gilt mein herzlicher Dank Herrn Universitätsprofessor Dr. Dr. med. vet. S. Arnhold für die Überlassung des Themas und seine stets hilfsbereite Betreuung.

Herzlich bedanke ich mich bei Herrn Universitätsprofessor Dr. med. W. Bloch und Frau G. Mades, die den Anstoß für diese Dissertation gaben.

Herrn Kristen danke ich für die Vermittlung der Versuchstiere.

Weiterhin danke ich allen Mitarbeitern des Instituts I für Anatomie, namentlich Frau E. Janssen und Herrn C. Hoffmann, die mir unermüdlich mit Rat und Tat zur Seite standen und ohne die ich den Datenwust nicht bewältigt hätte.

Ganz besonders und nachdrücklich danke ich Frau Jolanta Kozlowski für ihren steten Optimismus, ihre Hilfsbereitschaft und die fachlichen Tips. Durch unzählige spannende Diskussionen, praktische Tipps und diverse Beruhigungskaffees hat sie diese Arbeit bereichert und zur Fertigstellung beigetragen.

Nicht zuletzt gilt mein Dank Herrn Dr. med. vet. Olaf Behlert für die humorvolle und tatkräftige Unterstützung der Arbeit und meines Durchhaltevermögens.

Inhaltsverzeichnis

	Seite
1 Einleitung	1
2 Einführung in die allgemeine Biologie der Strumpfbandnatter	3
2.1 Taxonomische Einordnung	3
2.2 Phylogenese	4
2.3 Kennzeichen der Strumpfbandnattern	4
2.4 Vorkommen und Lebensweise der Gemeinen Strumpfbandnatter	6
3 Einführende Anatomie und Physiologie	8
3.1 Skelettsystem und Muskulatur	9
3.2 Herz- und Kreislaufsystem, Respirationstrakt	10
3.3 Lymphsystem	12
3.4 Urogenitalsystem	12
3.5 Allgemeine Anatomie und Physiologie des Verdauungstraktes	14
4 Mikroskopische Anatomie des Verdauungstraktes	18
4.1 Ösophagus	18
4.2 Magen	19
4.3 Dünndarm	21
4.4 Dickdarm	22
5 Allgemeines zu den angewandten Methoden	24
5.1 Allgemeines zur Gewebefixierung	24
5.2 Allgemeines zur Hämalaun-Eosin-Färbung	24
5.3 Allgemeines zur Alzianblau-PAS- Färbung	25
5.4 Allgemeines zur Trichromfärbung nach Goldner	26
5.5 Allgemeines zur Metachromatischen Färbung mit Toluidinblau	26
5.6 Allgemeines zum NADPH-Diaphorase Staining	26
5.7 Allgemeines zur Immunhistochemie	26
5.7.1 Allgemeines zu Neuropeptid Y (NPY)	27
5.7.2 Allgemeines zu HNK-1	27
5.7.3 Allgemeines zu Neurofilamenten (NF)	28
5.8 Allgemeines zur Transmissions-Elektronenmikroskopie	28

6	Material und Methoden	29
6.1	Versuchstiere und Präparation	29
6.2	Gewebsaufarbeitung für Paraffinschnitte und Gefrierschnitte	29
6.2.1	Gewebsfixierung für Paraffinschnitte und Gefrierschnitte	30
6.2.2	Probenaufarbeitung für Gefrierschnitte	30
6.2.3	Probenaufarbeitung für Paraffinschnitte	30
6.3	Färbemethoden	31
6.3.1	Färbung mit Hämalaun-Eosin	31
6.3.2	Färbung mit Alzianblau-PAS	31
6.3.3	Trichromfärbung nach Goldner	32
6.3.4	Metachromatische Färbung mit Toluidinblau	32
6.3.5	NADPH-Diaphorase Staining	32
6.3.6	Immunhistologische Färbungen	33
6.3.6.1	Durchführung der immunhistologischen Färbung	33
6.3.6.2	Positivkontrollen und Negativkontrollen	34
6.4	Elektronenmikroskopie	34
6.4.1	Fixierung der Proben für Elektronenmikroskopie	34
6.4.2	Probenaufarbeitung für Elektronenmikroskopie	34
6.4.3	Semidünnschnitte	34
6.4.4	Dünnschnitte	35
6.5	Rezeptteil	35
6.5.1	Aqua dest.	35
6.5.2	BSA-Lösung	35
6.5.3	Epon	36
6.5.4	Glutardialdehyd 2%	36
6.5.5	Goldner – Lösung 2	36
6.5.6	Goldner – Lösung 3	36
6.5.7	Goldner – Lösung 4	37
6.5.8	Inkubationslösung des NADPH-Diaphorase-Stainings	37
6.5.9	Mayers Hämalaun	37
6.5.10	Methylenblau-Azur II	37
6.5.11	Osmiumtetroxid-Lösung	37
6.5.12	Paraformaldehyd-Lösung (PFA) 4%ig	38
6.5.13	phosphatgepufferte Salzlösung (PBS) pH 7,4	38
6.5.14	Perjodsäurelösung	38

	6.5.15 Pikrinsäure	39
	6.5.16 Succroslösung	39
	6.5.17 Sulfitwasser	39
	6.5.18 TRIS-gepufferte Lösung	39
7	Ergebnisse	40
	7.1 Makroskopische Befunde und spezielle Histologie und Histochemie des Verdauungstraktes	40
	7.1.1 Ösophagus	40
	7.1.2 Magen	50
	7.1.3 Dünndarm	59
	7.1.4 Dickdarm	64
8	Diskussion	69
	8.1 Kritik der Methodik	69
	8.1.1 Versuchstiere	69
	8.1.2 Präparation und Färbungen	69
	8.2 Ergebnisse	70
	8.2.1 Histologie	71
	8.2.1.1 Ösophagus	71
	8.2.1.2 Magen	72
	8.2.1.3 Dünndarm	75
	8.2.1.4 Dickdarm	78
	8.3 Zusammenfassende Analyse des enterischen Nervensystems	78
	8.4 Weitere Erkenntnisse des NADPH-Diaphorase-Stainings	82
	8.5 Schlussfolgerung	82
9	Zusammenfassung	84
10	Summary	85
11	Literatur	87
12	Abbildungsverzeichnis	102
13	Anhang	106

1 Einleitung

Schlangen sind carnivor (BELLAIRS 1969, FRYE 1981, GASC 1998, TRUTNAU 1988, KÖLLE 2003, EULENBERGER 2006, EBERLE 2007), ihre Beutetiere schlucken sie im Ganzen (ZWART 1984, GASC 1998). Dabei richtet sich ihre präferierte Nahrung nach ihrem Habitat (GASC 1998); so ernähren sich Wassernattern beispielsweise von Fischen und Lurchen, baumbewohnende Schlangen fressen Vögel und baumbewohnende Kleinsäuger, Spezialisten wie *Dasypeltis* ernähren sich ausschließlich von Vogeleiern. Dabei ist die erfasste Beute nicht selten überproportional groß (POUGH et al. 1998). GASC (1998) beschreibt Schlangenarten, die Beutetiere mit 18,4% ihrer eigenen Körpermasse aufnehmen. Vipern können sogar Beutetiere mit bis zu 36,6% ihrer eigenen Masse verschlingen.

Wie bereits erwähnt müssen Schlangen sehr große Beutetiere verschlingen. Das Abschlucken und Verdauen großer Beutetiere ist nur durch anatomische Anpassung des Magen-Darm-Traktes an diese Gegebenheiten möglich. So sind die Gelenke und Knochen des Kiefers nur locker miteinander verbunden, um eine große Dehnfähigkeit zu ermöglichen (GANS 1961, BURKE 1978, BAUCHOT 1998). Durch die Lockerung des Bandapparates zwischen den Kiefern haben Schlangen die Fähigkeit verloren, Beute mit dem Maul zu zerdrücken (ENGELMANN und OBST 1981). Es wird daher zwischen verschiedenen Tötungsarten unterschieden; Würgeschlangen erwürgen ihre Beute, Giftschlangen töten durch Gift, Wurmsschlangen und Nattern speicheln die Beute ein und schlucken sie lebendig ab und/oder erdrosseln sie (POUGH et al. 1998, GASC 1998).

Die Gemeine Strumpfbandnatter *Thamnophis sirtalis sirtalis* verschlingt wie nahezu alle Nattern ihre Beute lebendig, die Beutetiere verenden in Ösophagus und Magen durch Ersticken (ENGELMANN und OBST, 1981). Die anatomischen Voraussetzungen dafür wurden für Schlangen mehrfach beschrieben (GANS 1961, FRYE 1973, LUPPA 1977, BURKE 1978, DAVIES 1981, ZWART 1984, IPPEN et al. 1985, SPÖRLE et al. 1991, JACOBSON 2007). So sind neben den Gelenken und Knochen des Kopfes auch Rippenbögen, Ösophagus, Magen und Darm sehr dehnbar, um große Beutetiere aufnehmen zu können. Anatomische und histologische Untersuchungen des Kopfes konnten Speicheldrüsen zur Einspeichelung der Beute nachweisen (KARDONG und LUCHTEL 1986, MUTSCHMANN 1995). Untersuchungen an *Thamnophis elegans vagrans* zeigten eine starke Drüsenausstattung des Oberkiefers mit serösen, mukösen und seromukösen Drüsen (KARDONG und LUCHTEL 1986). Eine wichtige Rolle spielt bei *Thamnophis spp.* in diesem Zusammenhang die Duvernoy'sche Drüse; die bei

Giftschlangen zur Giftdrüse weiterentwickelt wurde (KOCHVA 1965, SAVITZKY 1980, FRY 2004, JANSEN und FOEHRING 1983, VIDAL 2002, KARDONG und LUCHTEL 2005). Sie dient bei *Thamnophis spp.* vor allem der Einspeichelung der Beute (KARDONG 1980, KARDONG 1996). Die Beute wird hauptsächlich durch peristaltische Bewegungen der Halsmuskulatur und der Wirbelsäule nach kaudal bewegt und im Magen, mit Ausnahme von Chitin und Keratin, zersetzt (ENGELMANN und OBST 1981, GASC 1998). Um Fäulnis im Darmtrakt zu verhindern, muss die Beute schnell verdaut werden (POUGH et al. 1998); eine Königsboa braucht dazu unter Optimalbedingungen 7-9 Tage (ENGELMANN und OBST 1981). Dabei sind die Verdauungsvorgänge bei Schlangen stark von der Temperatur der Umgebung abhängig (BELLAIRS 1969, SKOCZYLAS 1970, TOLEDO et al. 2003, JACOBSON 2007). Bei niedrigen Temperaturen unter ca. 10 °C findet keine Verdauung statt, und die Beute muss ausgewürgt werden, um ein Verwesen im Magen-Darm-Trakt zu verhindern (GASC 1998, KÖLLE 2003). ENGELMANN und OBST (1981) beschreiben, dass Schlangen, die das faulende Futtertier nicht mehr erbrechen können, daran verenden.

Die Futterraufnahme ist nicht kontinuierlich, sondern wird von Faktoren wie Paarungszeit, Hibernation und jahreszeitlichem Futterangebot bestimmt. Dabei kann es zu langen Fastenperioden kommen, an die sich Energiehaushalt und der Magen-Darm-Trakt anpassen müssen. Es wird von verschiedenen Pythonarten berichtet, die zwischen 26 und 29 Monaten keine Nahrung aufnehmen (ENGELMANN und OBST 1981, GASC 1998). Eine Anpassung des Darmepithels an Fastenzeiten und Nahrungsaufnahme sowohl bei jagenden Schlangen als auch bei nicht-jagenden Schlangen konnten in verschiedenen Untersuchungen nachgewiesen werden (SECOR et al. 1994, SECOR und DIAMOND 1997, STARCK und BEESE 2001, STARCK und BEESE 2002).

Die Verdauung bei Schlangen ist also ein komplexer Vorgang, dessen Regulation auch von äußeren Faktoren abhängig ist, und an die sich die Anatomie und Histologie der Schlange angepasst hat.

Bisherige Untersuchungen zur Histologie des Verdauungstrakts der Schlangen zeigten, daß artspezifisch große strukturelle Unterschiede bestehen. Dabei sind Untersuchungen zur funktionellen Histologie meist fragmentarisch oder anhand willkürlich herangezogener Einzelthemen unsystematisch herausgegriffener Arten erfolgt.

In der vorliegenden Arbeit soll die histologische Aufarbeitung von Ösophagus, Magen und Darm am Beispiel von *Thamnophis sirtalis sirtalis* als Prototyp einer aktiv jagenden Schlange erfolgen. Dabei sollen durch spezifische Färbemethoden und spezifische Antikörper mittels licht- und elektronenmikroskopischer Auswertungen genauere Erkenntnisse über den histologischen Aufbau, die Drüsen und die Nervenversorgung dieser Organe im Zusammenhang mit der Verdauungsphysiologie gewonnen werden.

2 Einführung in die allgemeine Biologie der Strumpfbandnatter

2.1 Taxonomische Einordnung

Als Angehörige der Schlangen (Serpentes) gehören die Strumpfbandnattern (*Thamnophis spp.*) zusammen mit den Echsen zur Ordnung der Schuppenkriechtiere (Squamata) (JAROFKE und LANGE 1993, ZWART 1984). Innerhalb der Schlangen bilden Nattern mit ca. 2500 Arten und ca. 270 Gattungen eine der größten Gruppen (HALLMEN und CHLEBOWY 2001). Strumpfbandnattern gehören zur Unterfamilie der Wassernattern. Bei den Strumpfbandnattern selbst werden zur Zeit 31 Arten unterschieden (UETZ et al. 2007). Aufgrund genetischer Untersuchungen verändern sich die taxonomischen Einordnungen stetig.

Unterordnung	Überfamilie	Familie	Unterfamilie
Serpentes	Typhlopoidae (Scolecophidia)	Anomalepidae	
		Typhlopoidae	
		Leptotyphlopida	
	Henophidia (Booidea)	Aniliidae	
		Anomochilidae	
		Boidae	Boinae
			Erycinae
			Pythoninae
		Bolyeridae	
		Cylindrophiidae	
		Loxocemidae	
		Tropidophiidae	Tropidophiinae
			Ungaliophiinae
			Xenophidioninae
		Uropeltidae	
		Xenopletidae	
	Xenophidia (Colubroidea)	Acrochordidae	
		Atractaspididae	Atractaspidinae
			Aparallactinae
		Colubridae	Boodontinae
			Calamariinae
			Colubrinae
			Dipsadinae
			Homalopsinae
			Natricinae
			Pareatinae
			Psammophiinae
			Pseudoxenodontinae
			Pseudoxyrhophiinae
			Xenodermatinae
			Xenodontinae
		Elapidae	Elapinae
			Hydrophiinae
			Laticaudinae
		Viperidae	Crotalinae
			Viperinae
			Azemiopinae

Tabelle1: Systematik der Schlangen nach UETZ 2007

Ordnung	Squamata
Unterordnung	Serpentes
Familie	Nattern (Colubridae)
Unterfamilie	Wassernattern (Natricinae)
Gattung	Strumpfbandnattern (<i>Thamnophis</i>)
Art	31 Arten

Tabelle2: Systematik der gewöhnlichen Strumpfbandnatter nach UETZ 2007

2.2 Phylogenese

Das erste Auftreten von schlangenähnlichen Reptilien wird vor 195 Millionen Jahren im Jura vermutet (MUTSCHMANN 1995). PREISLER (2004) benennt als älteste fossile terrestrische Schlangenart *Lapparentophis defrennei*, die vor ca. 100 Millionen Jahren in Algerien beheimatet war, während BAUCHOT (1998) von noch älteren, aber unvollständig erhaltenen fossilen Funden spricht. Als Ursprung der amerikanischen Wasser- und Schwimmnattern gibt MUTSCHMANN (1995) den ostasiatischen Raum an, von wo aus die Tiere über die Behringstrasse auf den amerikanischen Kontinent vordrangen. Als Entstehungsgebiet der *Thamnophis*-Arten wird der mexikanische Raum bezeichnet. MUTSCHMANN (1995) vermutet, dass es sich bei *Thamnophis* ursprünglich um Tiere handelt, deren Habitat in Gebirgsregionen lag und welches sich durch die eiszeitlichen Klimaverschiebungen und die Interglazialzeiten über den nordamerikanischen Kontinent bis hin zum 40. Breitengrad ausdehnen konnte. In den ariden Gebieten Mexikos sind heute noch isolierte Populationen von *Thamnophis spp.* vorzufinden.

2.3 Kennzeichen der Strumpfbandnattern

Von anderen Natterartigen unterscheiden sich Strumpfbandnattern durch eine einfache Bezeichnung, wodurch sie allgemein als ungiftig angesehen werden. Es gibt allerdings einige Arten, die einen weitentwickelten Giftapparat besitzen (MUTSCHMANN 1995). Weitere Merkmale der Strumpfbandnattern sind die großen Kopfschilde und gut ausgebildete Bauchschilder. Im Gegensatz zu den Schwimmnattern besitzen sie ein ungeteiltes Afterschild (RHEINHARD und VOGEL 2000). *Th. sirtalis* besitzt 7 Oberlippen- und 10

Unterlippenschild, 19 bis 21 Dorsalia in der Körpermitte (MUTSCHMANN 1995, HALLMEN und CHLEBOWY 2001) 137 – 167 Ventralia, sowie bis zu 54 Subcaudalschilde bei weiblichen Tieren und bis zu 84 Subcaudalschilde bei männlichen Tieren. Im Allgemeinen sind 1 Prä- und 3 Postocularschild ausgeprägt (MUTSCHMANN 1995).

Die Durchschnittliche Körpergröße der gewöhnlichen Strumpfbandnatter wird von HALLMEN und CHLEBOWY (2001) mit 40-130 cm, von MUTSCHMANN (1995) mit 40 - 70cm, in Ausnahmefällen bis zu 135 cm und von TRUTNAU (1988) mit bis zu 125 cm angegeben. Die gewöhnliche Strumpfbandnatter hat einen vom Hals nur wenig deutlich abgesetzten Kopf, der Körper ist schlank und spitz zulaufend. Wie alle Strumpfbandnattern hat die gewöhnliche Strumpfbandnatter (Abb.1) einen hell abgesetzten Rücken- und zwei Seitenstreifen, die für die Gattung namensgebend sind. Bei Einzeltieren kann die Seitenstreifung entfallen (TRUTNAU 1988). Farbe und Zeichnungsmuster der gewöhnlichen Strumpfbandnatter sind vielfältig, Grundfarben der Streifung sind gelb, braun, grün oder blau; zwischen den Streifen können sich Flecken befinden, die meist als Doppelreihe ausgebildet sind. Die Ventralia können am Rand oder am Schuppengrund dunkel pigmentiert sein, meist sind sie heller als die dorsalen Schuppen.

Die in dieser Arbeit untersuchte Unterart *Thamnophis sirtalis sirtalis* hat eine schwarze, graue, braune oder olivfarbene Grundfarbe, Streifenmuster sind teilweise undeutlich ausgeprägt; die Seitenstreifen sind gelblich, bräunlich, grünlich oder bläulich. Zwischen Dorsal- und Lateralstreifen befindet sich meist eine Doppelreihe dunkler Flecken, die alternierend angeordnet sind. Die Bauchschild sind hellgelb-grünlich. Melanistische Varianten werden im Gebiet des Eriesees vorgefunden (MUTSCHMANN 1995).



Abb.1 *Thamnophis sirtalis sirtalis*

Entnommen aus: MUTSCHMANN, F. (1995): Die Strumpfbandnattern. Biologie, Verbreitung, Haltung. Westarp Wissenschaften, Magdeburg

2.4 Vorkommen und Lebensweise der Gemeinen Strumpfbandnatter

Die Gemeine Strumpfbandnatter ist die häufigste und verbreitetste *Thamnophis*- Art Nordamerikas, das Habitat erstreckt sich bis in die Vororte großer Städte wie Chicago (RHEINHARD und VOGEL 2000). Das Verbreitungsgebiet erstreckt sich in Amerika vom Atlantik bis zum Pazifik (Abb. 2) (TRUTNAU 1988, HALLMEN 2001), vom nördlichen Mexiko bis auf Höhe des 60. Breitengrades in Kanada, wobei *Th. sirtalis* das am weitesten nach Norden vordringende Reptil der westlichen Hemisphäre ist.

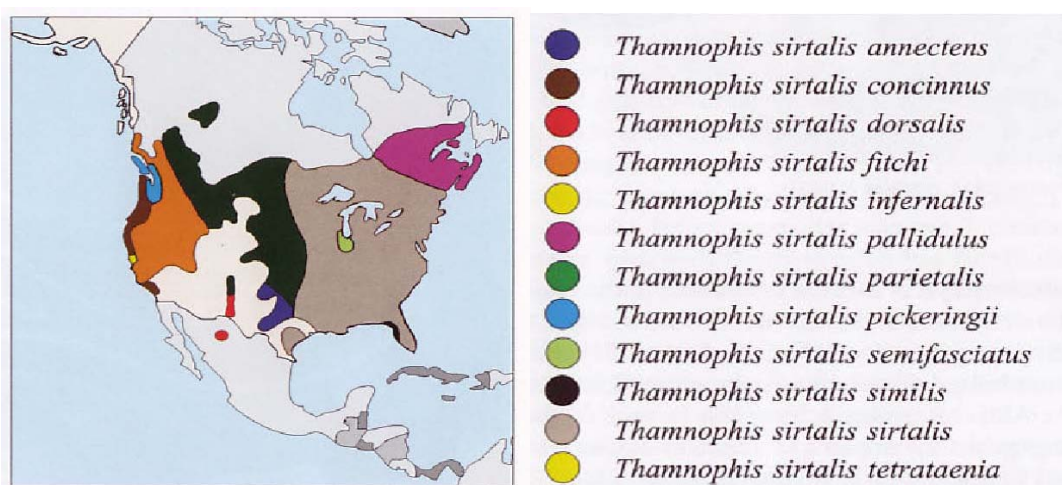


Abb.2 Verbreitungsgebiete von *Thamnophis sirtalis*

Entnommen aus: Hallmen, M., Chlebowy, J. (2001) Strumpfbandnattern Natur Und Tier-Verlag, Münster S. 169

Die gemeine Strumpfbandnatter ist je nach geographischer Lage des Habitats tag- oder dämmerungsaktiv und hauptsächlich in der Umgebung von Feuchtgebieten vorzufinden. Als aktiver Jäger bejagt *Th. sirtalis* hauptsächlich Fische, Lurche, Würmer und Schnecken, gelegentlich auch Vögel oder Nager (TRUTNAU 1988), Krabben und Meeresschnecken (ARNOLD 1980, HAMILTON 1951). Eine genetisch angelegte Resistenz von *Th. sirtalis* gegen das von Beutetieren ausgeschiedene Gift Tetrodotoxin wurde von DUELLMAN und TRUEB (1986) und GEFFENEY et al. (2005) beschrieben. Bei der Nahrungssuche spielen chemosensorische (HALPERN 1992, BURGHARDT und CHUMRA 1993), taktile und optische Reize (MUTSCHMANN 1995) die ausschlaggebende Rolle zur Beutefindung.

Anatomisch wichtige Strukturen für die Aufnahme chemosensorischer Reize sind das Jacobson'sche Organ (organum vomeronasale) und die Zunge, für die Aufnahme taktiler Reize sind Zungenspitze, Ober- und Unterseite des Kopfes, Rostrum, Ventralia, Kloake und Oberlippenschilde mit Rezeptoren versehen. Die im hinteren Bereich des Kopfes liegenden Augen ermöglichen eine gute Rundumsicht, Farbsehen konnte von ENGELMANN und OBST (1981) für Wassernattern nachgewiesen werden. Da die Linse nur wenig akkomodationsfähig ist (MUTSCHMANN 1995), werden Beutetiere im Abstand von 30 bis 50 cm visuell erfasst.

Die Hibernation findet von Oktober bis März statt, *Th. sirtalis* überwintert am und im Wasser (COSTANZO 1985). Dabei wird der Stoffwechsel auf ein Minimum heruntergefahren und die körpereigenen Reserven verbraucht. Nach TRUTNAU (1988) überwintern bei *Th. sirtalis* viele Tiere in der Gemeinschaft.

Die Paarung findet im April und Mai am Winterquartier statt. Eine Besonderheit ist hier das Zusammenballen mehrerer männlicher Tiere und eines Weibchens zu einem Knäuel (NAULLEAU 1998, HALLMEN und CHLEBOWY 2001). Die Wurfgröße wird von MUTSCHMANN (1995) mit bis zu 90 Jungschlangen angegeben, wobei dies verschiedenen Einflüssen wie der geographischen Herkunft (GREGORY und LARSEN 1993, SEIGEL und FORD 2001) oder des Nahrungsangebotes (FORD und SEIGEL 1989) unterliegt.

3 Einführende Anatomie und Physiologie

Die Anatomie der Schlangen weist artabhängig große Unterschiede auf, auf die im Einzelnen nicht genauer eingegangen wird. Im Folgenden wird die Anatomie und die topographische Anatomie der Schlangen im Allgemeinen und, soweit Untersuchungsergebnisse vorliegen, von *Thamnophis spp.* im Besonderen aufgeführt.

Allen Schlangen gemeinsam ist die durch Evolution begründete Anordnung der Organe von kranial nach kaudal. Neben Formveränderung durch Längsstreckung der Organe und durch Reduktion (z.B. Atrophie der linken Lunge) ist als dritter Mechanismus eine Lageveränderung durch Verzicht von Parallellagerung von Organen (z.B. Nieren) aufzuzeigen (KEIL 1990).

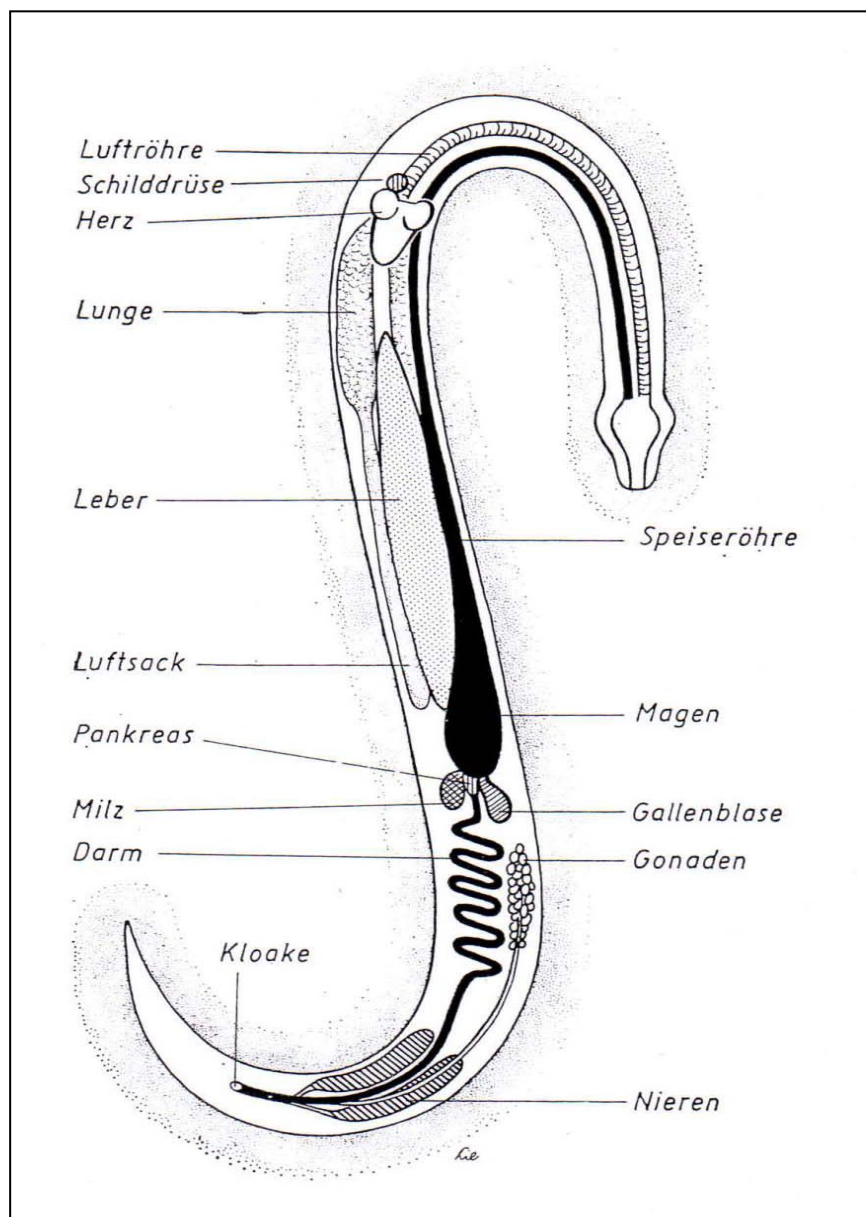


Abb.3 Übersicht über die Verdauungsorgane der Schlangen
aus: IPPEN, R., SCHRÖDER H,-D. und ELZE, K. (1985): Handbuch der Zootierkrankheiten, Band 1, Reptilien, Akademie-Verlag, Berlin

3.1 Skelettsystem und Muskulatur

Schlangen sind Wirbeltiere; da sie keine Extremitäten besitzen, ist das Rumpfskelett auf Schädel, Wirbelsäule und Rippen beschränkt. Nur das Vorhandensein oder Fehlen von Rippen lässt eine Differenzierung in Rumpf- und Schwanzbereich der Wirbelsäule zu, da der Schwanzteil der Wirbelsäule rippenlos ist. Schultergürtel und Sternum sind nicht vorhanden, alle Rippen sind somit frei beweglich und der Brustkorb sehr dehnbar, was das Verschlingen größerer Beute ermöglicht. Die Zahl der Rippen wird je nach Schlangenart von ENGELMANN und OBST (1981) mit 160 bis 435, von BAUCHOT et al. (1998) mit 100 bis über 600 angegeben, JAROFKE und LANGE (1993) sprechen von 180 bis 435 Wirbeln, BURKE (1978) von 200 bis 300 Wirbeln, BELLAIRS (1969) von 160 bis 400 Wirbeln und KEIL (1990) von bis zu 565. Dabei haben große Schlangenarten nicht zwangsläufig mehr Wirbel als kleinere Arten. Zwischenwirbelscheiben sind nicht vorhanden (DAVIES 1981). Im vorderen Rumpfbereich können sich Hypapophysen, ventrale Verlängerungen der Wirbel, befinden, im Schwanzbereich sind sie als Hämapophysen ausgebildet; sie fungieren als Kanal für Blutgefäße. Kaudale Wirbel können gegabelte Rippen tragen, die Lymphherzen einschließen (BELLAIRS 1969, BURKE 1978). Diese sind muskulöse Aussackungen der Lymphgefäße und für die Zirkulation der Lymphe wichtig. Ein Beckengürtel ist nicht angelegt, lediglich bei primitiven Schlangen wie Blindschlangen, Rollschlangen, Spitzkopfpithons, Riesenschlangen und karibischen Boas können Reste des Beckengürtels und des Oberschenkels angelegt sein (BAUCHOT 1998). Diese Rudimente sind als sog. Afterklauen bei Riesenschlangen und Walzenschlangen neben dem Afterschild sichtbar (BELLAIRS 1969, ENGELMANN und OBST 1981, JAROFKE 1993, POUGH et al 1998) und werden als Beweis der Abstammung von vierfüßigen Echsen gewertet. Sie sind bei männlichen Tieren stärker ausgeprägt und spielen eine Rolle im Paarungsakt.

Der Schädel ist mit dem Atlas verbunden, der, wie auch der zweite Halswirbel, rippenlos ist. Die Schädelkapsel ist verstärkt und ventral durch die Verlängerung des Os parietale geschlossen. Die direkte Verbindung der Schädelkapsel mit der Muskulatur der Wirbelachse ermöglicht große Beweglichkeit und Feinkoordination (BAUCHOT 1998). Ein äußeres Ohr ist nicht vorhanden, das Mittelohr fehlt (BURKE 1978, ZWART 1984, HÄFELI und SCHILDGER 1995). WEAVER und VERNON (1960) konnten nachweisen, dass bei *Thamnophis spp.* eine Hörfähigkeit des Innenohres bei niederfrequenten Schallwellen vorhanden ist, wobei das Os quadratum die Funktion des Trommelfells übernimmt.

Für viele Schlangenarten ist der extrem bewegliche Kiefer typisch, der das Verschlingen von großer Beute ermöglicht. Zwischen Oberkiefer und Schädel ist nur eine lockere Verbindung vorhanden, eine Verbindung zwischen Oberkieferknochen und Quadratbein besteht nicht. Dies ermöglicht in Addition zu der großen Beweglichkeit des Quadratbeins und der fehlenden Mandibularsymphyse eine große Öffnung des Mundes zum Verschlingen großer Beute (GANS 1961, BURKE 1978, BAUCHOT 1998).

Hals-, Rumpf- und Schwanzmuskulatur besteht aus ineinander übergehenden Muskelketten, die mit den Rippen oder tiefer liegenden Muskelschichten verbunden sind. Dabei überspannen Muskelzüge größere Abschnitte der Wirbelsäule, wobei Faszien und Septen Muskulatur, Haut und Wirbel miteinander verbinden (BURKE 1978, ENGELMANN und OBST 1981, BAUCHOT 1998). Die Fortbewegung der Schlange wird nicht nur von der Rumpfmuskulatur ermöglicht, sondern auch maßgeblich von der Hautmuskulatur unterstützt, die von den Schuppen zu den Wirbeln zieht und die Beweglichkeit der Schuppen steuert.

3.2 Herz- und Kreislaufsystem, Respirationstrakt

Das Herz sitzt relativ weit kaudal der Bauchwand direkt an (ZWART 1984), und ist länglich und asymmetrisch; der rechte Vorhof ist meist dicker als der linke (BAUCHOT 1998). BADEER (1998) stellte die These auf, dass die Lage des Herzens von Schlangen vom benötigten Blutdruck und damit von der Widerstandsfähigkeit der zu- und abführenden Blutgefäße abhängig sei. Dies wurde jedoch von KEIL (1990) widerlegt.

Strumpfbandnattern besitzen, wie alle Schlangen, ein nur unvollkommen durch das septum interventriculare gekammertes Herz mit zwei Vorkammern (HÄFELI und SCHILDGER 1995, MUTSCHMANN 1998), das die Durchmischung von sauerstoffarmem und sauerstoffreichem Blut ermöglicht. Die Vena cava caudalis und die beiden vorderen venae cavae treten über den rechtsliegenden sinus venosus in das rechte Atrium ein, welches bei vielen Schlangenarten das größere Atrium bildet (JACOBSON 2007). Das sauerstoffreiche Blut verlässt das Herz über zwei Aortenbögen, deren Ursprung je nach Schlangenart unterschiedlich angelegt ist (KEIL 1990, JACOBSON 2007). Die rechte und die weniger stark ausgeprägte linke Aorta formen nahe dem Herzen ein gemeinsames Gefäß, die Aorta dorsalis; durch diesen durch den Aortenzusammenfluss gebildeten Ring zieht der Ösophagus. Bei den Colubridae ist, im Gegensatz zu anderen Schlangenarten, eine einzige Karotis, die linke, ausgebildet (MUTSCHMANN 1998). Sie entspringt dem rechten Aortenbogen (BELLAIRS 1969).

Kaudal schließt sich die Schilddrüse an das Herz an (DAVIES 1981).

Der Respirationstrakt kann nach PARSONS (1970) in einen oberen und unteren Teil eingeteilt werden. Die obere Komponente besteht aus Nasenlöchern, Nasenvorhof, Nasenhöhle, Conchae nasales, Ductus nasopharyngeus und den inneren Nasenlöchern.

Wie allen Schlangen fehlt auch *Thamnophis spp.* ein weicher Gaumen, so dass eine direkte Verbindung zwischen Nasenhöhle und Maulhöhle besteht (OLDHAM et al. 1970).

Die untere Komponente des Respirationstraktes besteht nach PARSONS (1970) aus Glottis, Laryngotrachea, Bronchi und Lungen. Die Trachealöffnung liegt prominent am rostralen Ende des Mundbodens, sie ist beweglich, damit während der Nahrungsaufnahme Atmung ermöglicht werden kann (BURKE 1978). Die Trachea wird von unvollständig geschlossenen Trachealknorpeln gestützt, die artspezifisch mehr oder weniger stark von einer Membran geschlossen werden (LEJA und SCHILDGER 1991). Die Glottis ist simpel konstruiert, der Kehlkopfknorpel wird von zwei Knorpeln gestützt, ein thyroidealer Knorpel fehlt (IPPEN et al. 1985), ebenso eine Epiglottis, die nur bei wenigen Arten ausgebildet ist (PORTER 1972). Bereits im hinteren Drittel der Trachea beginnt der Gasaustausch (Tracheallunge), dabei wird die Atmung allein von der Rippenbewegung gesteuert, ein Zwerchfell fehlt (PORTER 1972, DAVIES 1981, CHIODINI et al. 1982).

Die Lunge liegt bei Schlangen von Bindegewebe umhüllt frei in der ungeteilten Pleuroperitonealhöhle. Kranial ist sie an die Wand des Pericards angeheftet, der kaudale Pol ist mit einer septumartigen Bildung verbunden (LEJA und SCHILDGER 1991). Wie bei den meisten Schlangen ist die linke Lunge von *Thamnophis spp.* atrophiert oder nicht vorhanden (DAVIES 1981, MUTSCHMANN 1998). Die rechte Lunge erstreckt sich im Allgemeinen bis auf Höhe der rechten Niere. Die Lungen von Schlangen bestehen in der vorderen Hälfte aus Alveolen und Blutgefäße tragendem Gewebe, die kaudalen 50% der Lunge besitzen kein respiratorisches Gewebe und werden als Luftsack bezeichnet. Dieser hat, außer bei Wasserschlangen, wo er eine bei Fischen vergleichbare Funktion einer Schwimmblase übernimmt (OLDHAM et al. 1970, BAUCHOT 1998), die Aufgabe der Alveolarventilation wenn die Lunge durch aufgenommenes Futter komprimiert wird (DAVIES 1981). Bei männlichen Tieren isoliert und kühlt er das Hodengewebe. Die zum Gasaustausch zur Verfügung stehende Lungenfläche ist kleiner als bei Mammaliern (DAVIES 1981, BAUCHOT 1998). Sauerstoff wird primär zur Verstoffwechselung aufgenommener Nahrungsenergie benötigt, da Schlangen als poikilotherme Tiere nicht auf die Erzeugung von Körperwärme angewiesen sind.

3.3 Lymphsystem

Generell sind die Lymphgefäße bei Reptilien größer als bei Säugetieren (OTTAVIANI und TAZZI 1977). Die großen Blutgefäße sind von Lymphscheiden umhüllt, die Eingeweide besitzen periviszzerale Lymphräume. Die Lymphgefäße besitzen ein netzartiges Zuflußgebiet aus Haut und Muskulatur über das lockere Unterhautbindegewebe und bekommen weiteren Zufluß aus der Cysterna chyli (KEIL 1990). Die vertebralen Lymphgefäße speisen die bereits genannten Lymphherzen, die die Lymphe in das Pfortadersystem der Nieren leiten. Sowohl CHIODINI et al. (1982) als auch OTTAVIANI und TAZZI (1977) geben an, dass Reptilien keine Lymphknoten besitzen, eine bursa fabricii fehlt Schlangen ebenso. Generell befinden sich aber an den für Lymphknoten von Säugern äquivalenten Stellen Lacunen, bzw. Zisternen (OTTAVIANI und TAZZI 1977).

3.4 Urogenitalsystem

Die Nieren von *Thamnophis spp.* sind paarig angelegt und befinden sich im letzten Viertel des Körpers (KEIL 1990). Sie sind lang gestreckt, gelappt, und die rechte Niere liegt nach kranial versetzt vor der linken Niere (BELLAIRS 1969). Über die Nieren wird das Blut von Stoffwechselprodukten gereinigt, vor allem von Harnsäure und weiteren Stickstoffverbindungen. Die Intensität der Nierenfunktion ist dabei stark von der Außentemperatur abhängig. Die Schlangenniere ist aus Nephronen aufgebaut, denen die Henle'sche Schleife fehlt (DAVIES 1981, ZWART 1984, PETERS 1985); die Zahl der Nephrone und Glomeruli ist ggb. Säugern reduziert (DAVIES 1981) und die Oberflächen der Glomeruli sind mit sehr wenig Kapillaren besetzt (PETERS 1985).

Als Besonderheit liegt an der Oberfläche der Nieren männlicher Schlangen im letzten Abschnitt der Tubuli ein Sexualegment, in dem in verschiedenen Phasen der sexuellen Aktivität PAS-positive Sekretgranula gebildet wird (DAVIES 1981, PETERS 1985, KEIL 1990, HÄFELI und SCHILDGER 1995). Damit ist dieser Teil der Niere eher als akzessorische Geschlechtsdrüse statt als Harnorgan anzusehen (DAVIES 1981).

Wie bei Vögeln und anderen Reptilien ist ein Nierenpfortadersystem vorhanden, das der Niere aus hinteren Körperteilen Blut zuführt (PETERS 1985). Eine Harnblase existiert nicht, dafür eine Enddarterweiterung, die der Harnspeicherung dient. Die medial an den Nieren entlanglaufenden Harnleiter enden in der Kloake, die von kranial nach kaudal in Coprodeum, welches die Fäzes aufnimmt, Urodeum, in welches sich die Urogenitalgänge eröffnen, und Proctodeum als Kloakalraum, unterteilt wird (DAVIES 1981, BAUCHOT 1998).

In der Kloake findet auch Rückresorption von Flüssigkeit statt. Um einem großem Flüssigkeitsverlust, verursacht durch die nicht vorhandene Henle'sche Schleife, vorzubeugen, werden Stoffwechselprodukte nicht flüssig sondern hauptsächlich als hochkonzentrierte Uratsalze und Harnsäure abgegeben (DAVIES 1981, ZWART 1984). Die Kloakenhöhle wird nach außen durch den Kloakenspalt begrenzt.

Hoden und Ovarien liegen intraabdominal vor den Nieren, die Samenleiter bzw. Eileiter enden in der Kloake. Samenleiter und Eileiter münden auf der Papilla urogenitalis ins Urodeum, wobei die Samenleiter gemeinsam mit dem Urether enden können. (PETERS 1985).

Nahe der Genitalorgane im Mesovar, bzw. Mesorchium liegen die Nebennieren bei denen eine klare Separation in Mark und Rinde nicht ersichtlich ist (DAVIES 1981).

Größe und Farbe der Hoden unterliegt zyklischen Veränderungen (PETERS 1985, SASSENBURG 2000) und können im Sexualzyklus ihre Größe verdoppeln. OLDHAM et al. (1970) beschreibt das Fehlen von Nebenhoden, während PETERS (1985) aufgrund eigener Untersuchungen jedoch den ersten, stark gewundenen Teil der am Hoden entlang ziehenden Rinne als solchen bezeichnet. Bei männlichen Tieren zieht vom Hoden eine Furche zu den paarig angelegten Hemipenes, die beidseits auf der ventralen Seite der Schwanzwurzel jeweils in einer Tasche liegen und bei der Paarung ausgestülpt werden können. Sie besitzen keine Harnröhre und fungieren als Leitrinnen, sulcus spermaticus, für das Sperma bei der Kopulation (SCHILDGER et al. 2000, SASSENBURG 2000). Sie tragen als echte Hautverknöcherungen Penishaken (SASSENBURG 2000).

Die Ovarien der Schlangen sind länglich und mit Follikeln in verschiedenen Stadien besetzt. Weibliche Tiere können im Eileiter befruchtungsfähige Spermien über längeren Zeitraum speichern, so dass es ohne direkte Paarung zu einer Befruchtung kommen kann (MUTSCHMANN 1998, SASSENBURG 2000). *T. sirtalis* besitzt im Bereich des Eileitertubus Alveolardrüsen. FOX (1956) vermutet, dass die Spermien in das Zytoplasma ihrer zilienlosen Epithelschicht eindringen und bis zu einem Jahr befruchtungsfähig bleiben.

Bei *Thamnophis spp.* übernimmt ein großer Abschnitt des Eileiters die Funktion eines Uterus und dient der Reifung der Eizellen und der Embryonalentwicklung (MUTSCHMANN 1998, SASSENBURG 2000).

3.5 Allgemeine Anatomie und Physiologie des Verdauungstraktes

Generell ist das Verdauungssystem in Vorder-, Mittel- und Enddarm einzuteilen; der Enddarm mündet zusammen mit den Ausführungsgängen des Urogenitalsystems in die Kloake (MUTSCHMANN 1995).

Wie schon erwähnt sind Schlangen *carnivor* (BELLAIRS 1969, FRYE 1981, BAUCHOT 1998, TRUTNAU 1988, EBERLE 2007), als aktiv jagende Schlangen haben *Thamnophis spp.* einen zum Orten und Ergreifen von Beutetieren ausgebildeten Kopf- und Mundraum.

Die Zunge ist lang, gespalten und drüsenlos (JACOBSON 2007). Sie liegt vom Hyoglossum gestützt in einer Scheide am Mundboden, eine Furche in der Unterlippe ermöglicht ein Züngeln ohne das Maul zu öffnen (BURKE 1978). Der Zunge kommt im Schluckakt keinerlei Funktion zu, sondern sie dient vielmehr der Wahrnehmung der Umwelt und hat großen kausalen Anteil an den Verhaltensweisen der Schlangen (DAVIES 1981, IPPEN et al. 1985, SCHULTERBRANDT et al. 2008). So konnten BURGHARDT und PRUITT (1975) nachweisen, dass bei *Thamnophis sirtalis*, denen die Zunge amputiert wurde, Futteraufnahme und Reaktionen auf Beutetiere und Umwelt fast nicht vorhanden waren, bzw. das Futterverhalten stark gestört war.

In der Zungenspitze liegende Rezeptoren dienen dem Tastsinn; flüchtige Geruchspartikel werden über die Zunge an das Jacobson'sche Organ geleitet, das am Nasenboden in die Mundhöhle eingebettet ist. Es eröffnet sich über zwei Gänge zur Mundhöhle, unter denen die Spitzen der zurückgezogenen Zunge zu liegen kommen (ZWART 1984, PLATEL 1998). Speziell bei den *Colubridae* ist der nasovomerale Lappen des Gehirns stärker ausgeprägt als der Hauptriechlappen (BAUCHOT 1998), was die Wichtigkeit dieses sensorischen Organs unterstreicht. Ein Geschmackssinn scheint nach MUTSCHMANN (1995) bei Schlangen nicht ausgeprägt zu sein, da der Nachweis entsprechender Rezeptoren bisher nicht gelang.

Hinsichtlich des Zahn – und Giftapparates unterscheidet man bei Schlangen folgende Zahntypen: Glattzähner (Aglypha) und gefurchte Zähne mit Gifttrinne oder Giftkanal, die je nach Lage der Giftzähne in Furchenzähner (Opisthoglypha), Vorderfurchenzähner (Proteroglypha), und Röhrenzähner (Solenoglypha) unterteilt werden.

Strumpfbandnattern zählen zu den Aglypha. Ihre wurzellosen, nach hinten gebogenen Zähne befinden sich seitlich am Kieferinnenrand und werden mehrmals im Leben lateral ersetzt, sobald der alte Zahn und dessen Knochenbasis resorbiert wurden (Polyphyodontie) (BAUCHOT 1998, IPPEN et al. 1985, ZWART 1984). Im Oberkiefer sind zwei, im Unterkiefer eine Zahnreihe vorhanden. Die letzten drei Zähne des Oberkieferknochens sind oft größer als die anderen Zähne MUTSCHMANN (1995). Die Bezahnung der

Strumpfbandnattern ist an die artspezifische Nahrungsspezialisierung gebunden und differiert nach Habitat und präferierter Nahrung; so besitzen beispielsweise aquatile Arten eine stärkere Bezahnung.

In den Mundraum münden viele Drüsen, bei *Thamnophis spp.* lassen sich Ober- und Unterlippendrüsen nachweisen (MUTSCHMANN 1998). Da Schlangen ihre Beute im Ganzen abschlucken müssen, ohne sie vorher zerkleinern zu können, benennt DAVIES (1981) als Hauptfunktion der Speichelsekretion dieser Drüsen die Einspeichelung für den Schluckakt, weniger die Verdauung.

Deutlich ist die Duvernoy'sche Drüse ausgeprägt. Sie liegt beidseits direkt unter der Haut in der Temporalregion, ihr Ausführungsgang endet hinter dem letzten Zahn im Oberkiefer.

Im Gegensatz zu Giftschlangen, bei denen zur Injektion des Giftes die Drüsen sehr stark mit Muskulatur ausgestattet sind, ist die Duvernoy'sche Drüse bei *Thamnophis spp.* primitiv aufgebaut (FRY 2003), es fehlt eine sehnige Verbindung zur Muskulatur, auch Myoepithelien sind wenig ausgeprägt (JANSEN 1983, JANSEN und FOEHRING 1983). Das seröse bzw. seromuköse Sekret wird daher nicht wie bei Giftschlangen schnell und gezielt mit einem hohen Druck injiziert, sondern relativ ungerichtet und mit wenig Druck sezerniert (KARDONG 2002). Dies begründet sich in der Funktion der Drüsen, deren Sekret bei den Colubriden nicht wie bei Giftschlangen zum Beutefang sondern vielmehr zum Abschlucken und Verdauung der Beute genutzt wird (KARDONG 1980, KARDONG 1996). MUTSCHMANN (1995) weist auf den Enzymcharakter hin, der eine beginnende Verdauung schon in der Mundhöhle ermöglicht. Eine Neutralisierung von Toxinen oder Keimen der Beute durch das Sekret der Duvernoy'schen Drüse bei Schlangen wird von KARDONG (1980) und JANSEN (1983) vermutet. Das Sekret der Duvernoy'schen Drüse ist beim Beutefang nur von untergeordneter Wichtigkeit und für den Menschen nicht gefährlich. ROSENBERG et al. (1985) konnte bei Toxizitätsstudien eine nur geringe Toxizität für das Gift von *Thamnophis spp.* ausmachen. Bei Menschen wurde nach dem Biss der Strumpfbandnatter verschiedentlich von leichten Vergiftungsreaktionen wie Ödemen, Schmerz und Hämorrhagien berichtet (VEST 1981, HAYES 1985, MINTON und WEINSTEIN 1987, MUTSCHMANN 1998). Es wird davon ausgegangen, dass sich die Giftdrüsen der Vipern und Giftnattern aus dieser Drüse entwickelt haben (KOCHVA 1965, SAVITZKY 1980, JANSEN und FOEHRING 1983, MINTON und WEINSTEIN 1987, HEDIGER 2000, VIDAL 2002, FRY 2003, FRY 2004, KARDONG und LUCHTEL 2005).

Der Rachenhöhle schließt sich direkt der dünne, sehr lange und dehnbare Ösophagus an. Er verläuft links dorsal der Trachea (KEIL 1990) und kaudal des Herzens links der rechts

liegenden Leber. Der Ösophagus ist mit markanten longitudinalen Schleimhautfalten ausgestattet (FRYE 1973, DAVIES 1981, IPPEN et al. 1985, JACOBSON 2007), welche eine extreme Dehnbarkeit ermöglichen, um auch große Beute abschlucken und verdauen zu können. Er endet in Höhe der Körpermitte in einem einhöhligen Magen.

Der spindelförmige Magen ist entsprechend der langen Körperform lang gestreckt und nicht scharf vom Mitteldarm abgegrenzt (LUPPA 1977). Er ist, ebenso wie der Ösophagus, mit Schleimhautfalten ausgekleidet (PETERS 1985, JACOBSON 2007) und dehnbar. Der Magen wird artspezifisch unterschiedlich deutlich in einen Corpus Ventriculi und eine Pars Pylorica unterteilt (LUPPA 1977, DAVIES 1981, JACOBSON 2007). Nach BAUCHOT (1998) zersetzen die im Magen produzierten Enzyme und Säuren die Beutetiere mit Ausnahme von Keratin und Chitin vollständig.

Der am wenig ausgebildeten Pylorus (ZWART 1984) beginnende Dünndarm resorbiert die aufgenommenen Nährstoffe und ist kranial mit einem Ringfalte bzw. einer trichterförmigen Pylorusklappe (LUPPA 1977) ausgestattet, an der sich Gallen- und Pancreasgänge eröffnen (FRYE 1973).

Der in Schlingen gelegene Dünndarm mündet seitlich in den Dickdarm, der Übergang der zwei Darmabschnitte wird durch die Valvula ileocolica gezeichnet (PORTER 1972, JACOBSON 2007). Das kraniale Ende des Dickdarms bildet ein mehr oder wenig deutliches Caecum aus (PETERS 1985). Der Dickdarm hat einen größeren Durchmesser als der Dünndarm und ist nicht mit Schleimhautfalten ausgelegt (PETERS 1985), er endet mit dem Rektum in der Kloake. Generell ist der Dickdarm herbivorer Reptilien größer und länger als der carnivorer Spezies (JACOBSON 2007). Seine Funktion liegt in der Resorption des Wassers aus dem Nahrungsbrei. Der gesamte Darm ist mit Fettläppchen umgeben, die je nach physiologischem Zustand der Schlange unterschiedlich groß sind (BAUCHOT 1998).

Der gesamte Darmtrakt ist bei Reptilien relativ kurz (SPÖRLE et al. 1991), wobei der Dünndarm herbivorer Reptilien generell länger ist als bei carnivoren Spezies (JACOBSON 2007).

Die im Gegensatz zum Säuger reduzierte Schlingung des Darms führt DAVIES (1981) als ein Hauptaspekt an die Anpassung an die langgestreckte Körperform auf.

Pancreas, Milz und Gallenblase sind unmittelbar zusammengelagert (ZWART 1984).

Das Pancreas im Allgemeinen beschreibt UNDERWOOD (1967) als pyramidenförmig, kompakt und am ersten Duodenalabschnitt hinter der Milz liegend, mit der es verwachsen sein kann. Es liegt in gleicher Höhe oder kaudal der Gallenblase und fast immer kaudal der Leberspitze. Diese Erkenntnisse wurden durch Untersuchungen von MILLER und LAGIOS (1970), sowie MOSCONA (1990) bestätigt. BELLAIRS (1969) gibt als Lagebezeichnung die

Situierung direkt am Pylorus an. Im Gegensatz zu vielen anderen Organen ist diese endokrine Drüse bei der Schlange sehr kompakt. Diese Kompaktheit unterscheidet vor allem das sehr kompakte Pancreas der Colubriden vom diffusen Pancreas höherer Säugetiere (MOSCONA 1990). Bezüglich der Ausbildung der Pancreasschenkel gibt es große artspezifische Unterschiede (MILLER und LAGIOS 1970, KEIL 1990, MOSCONA 1990). Die Gallenblase ist von ovaler Form und dunkelblau (CHIODINI et al. 1982), sie liegt aufgrund des „Platzproblems“ entfernt von der Leber in Höhe des Pylorus (BELLAIRS 1969, MOSCONA 1990), nach CHIODINI (1982) unmittelbar kranial von Milz und Pancreas.

Zur Anatomie der Ausführungsgänge von Galle, Pancreas und Leber zitiert LUZ (2000) verschiedene Untersuchungen, die widersprüchliche Angaben zu Anzahl und Verlauf der Ausführungsgänge machen. Genauere Untersuchungen wurden von MOSCONA (1990) durchgeführt. Er unterteilte aufgrund der Lage von Milz, Pancreas, Langerhans' schen Inseln und Gallenblase Reptilien in fünf verschiedene Typen, wobei *Thamnophis spp.* nicht im Besonderen, dafür aber die Familie der Colubridae, zu der auch *Thamnophis spp.* zu zählen ist, maßgebend für den hier dargestellten „Colubriden Typ“ sind.

Der Ductus cysticus entspringt dem vorderen Pol der Gallenblase und teilt sich in verschiedene Zweige auf (MOSCONA 1990). Mit ihm vereinigt sich der ebenfalls verzweigte Ductus hepaticus zu einem gemeinsamen Gallengang, den BELLAIRS (1969) als Ductus choledochus bezeichnet, und der zum Pancreas zieht. Das Pancreas entlässt im vorderen Teil den Santorini-Gang, im hinteren den Wirsung-Gang; beide Gänge eröffnen sich mit dem Gallengang auf der Papilla duodeni major, wobei es innerhalb der Colubridae Arten gibt, die einen zweiten Ausführungsgang zum Duodenum aufweisen, in dem sich der Santorini-Gang entlässt (MOSCONA 1990).

Als weitere Anhangsdrüse des Darmtrakts liegt kaudal im Körper lang gestreckt die Leber in einem Fettpolster eingebettet (MUTSCHMANN 1995). Die Leber ist dunkelbraun, glatt und ungelappt (SPÖRLE et al. 1991), und wird von der Glisson'schen Kapsel umgeben (JACOBSON 2007). Zwei parallel verlaufende, die Zentralvene umschließende Leberschenkel sind jedoch deutlich ausgeprägt (BELLAIRS 1969). Diese zwei „Schenkel“ entstehen durch die dorsal verlaufende Vena hepatica und die ventral verlaufende Vena porta, die eine dorsale bzw. ventrale Einziehung verursachen (JACOBSON 2007).

Die Leber nimmt bei *Thamnophis sirtalis* in der Extremausdehnung 29 % der Körperlänge ein (KEIL 1990) und zieht dabei von der Herzspitze bis zu den Ovarien. Sie hat große Wichtigkeit im Stoffwechsel, als Speicherorgan und in der Verdauung.

4 Mikroskopische Anatomie und makroskopische Beschreibung des Verdauungstraktes

Bisher gibt es nur wenige, meist fragmentarische Informationen zur mikroskopischen Anatomie des Verdauungstraktes bei Reptilien.

Im Folgenden ist die mikroskopische Anatomie der Schlangen im Allgemeinen und, soweit es Untersuchungen darüber gibt, von *Thamnophis spp.* im Besonderen beschrieben.

4.1 Ösophagus

Der Ösophagus ist bei allen Schlangen von longitudinalen Falten dominiert, die Stärke der Faltung ist artspezifisch unterschiedlich. Die Längsfalten des Ösophagus von *Thamnophis sirtalis* liegen sehr nah beieinander, sind dünn, verzweigt und unterschiedlich dick mit glatt erscheinender Oberfläche; im kaudalen Abschnitt wird die Anzahl der Falten weniger, die Falten tiefer (PARSONS und CAMERON 1977).

Der histologische Aufbau des Ösophagus zeigt bei Reptilien artspezifisch große Unterschiede; generell ist die histologische Schichtung des gesamten Magen-Darm-Traktes jedoch wie beim Säugetier ausgebildet. Lumenwärts liegt die Tunica mucosa mit Lamina epithelialis, Lamina propria und Lamina muscularis mucosae, darunter die Tela submucosa, sowie Tunica muscularis mit innerer Ring- und äußerer Längsmuskulatur, sowie eine Serosa (LUPPA 1977).

Der Ösophagus der Schlangen ist nach SCHUMACHER (1927) und JACOBSON (2007) mit mukösem, mehrreihigem Flimmerepithel ausgelegt. Zilien und Becherzellen sind in großer Zahl vorhanden, wobei das kaudale Ende des Ösophagus von Becherzellen dominiert wird (SCHUMACHER 1927, LUPPA 1977, JACOBSON 2007). Die Basalzellen sind durch einen ovalen, deutlich anfärbbaren Zellkern, sowie basophiles Cytoplasma gekennzeichnet. Die sich lumenwärts anschließende Zellschicht besteht aus prismatischen Zellen, weiter lumenwärts sind die Zellen flach und besitzen einen runden Kern (LUPPA 1977).

Die Lamina propria mucosae besteht aus elastischen und kollagenen Fasern und Blutgefäßen (GEGENBAUR 1901, LUPPA 1977, JACOBSON 2007), bei Schlangen befinden sich hier keine Drüsen. Nach LUPPA (1977) können hier bei verschiedenen Reptilienarten lymphknotenähnliche Strukturen gefunden werden. Die Lamina muscularis ist artabhängig unterschiedlich stark ausgeprägt. Während LUZ (2002) bei Burmesischen Pythons die Lamina muscularis mucosae durchgehend als zweischichtig beschreibt, gibt JACOBSON (2007) diese für Reptilien mit Ausnahme von Schildkröten als im kaudalen Teil

des Ösophagus sichtbar verlaufend an. In der Tela Submucosa beschreibt JACOBSON (2007) im Gegensatz zu anderen Autoren das mögliche Vorkommen von Drüsen und lymphatischem Gewebe bei Schlangen.

Der Ösophagus von Schlangen ist vor allem im kranialen Abschnitt sehr dünn, und sehr dehnbar, die Anzahl der Muskeln in der Ösophaguswand variiert artspezifisch. Generell ist er bei Schlangen im kranialen Abschnitt weniger stark mit Muskulatur ausgelegt, im kaudalen Abschnitt stärker (JACOBSON 2007). Die Tunica muscularis besteht aus einer inneren zirkulär und einer äußeren längs verlaufenden Muskelschicht glatter Muskulatur. Die Zirkulärmuskelschicht ist immer stärker als die längs verlaufende (LUPPA 1977). Nach GEGENBAUR (1901) kann im vordersten Ösophagusabschnitt die äußere Längsmuskelschicht fehlen.

4.2 Magen

Generell werden im Magen zwei Regionen unterscheiden, den Corpus (Fundus) und die Pars Pylorica (LUPPA 1977, JACOBSON 2007).

Die Mukosa des Magens unterscheidet sich deutlich von der des Ösophagus durch ihre starken Schleimhautfalten (PARSONS und CAMERON 1977, PETERS 1985) und die Längsfaltung, deren Ausmaß artspezifisch unterschiedlich ist (JACOBSON 2007). PARSONS und CAMERON (1977) beschreiben sie für *Thamnophis sirtalis* als ungleichmäßig und sehr verzweigt; in Bereich des Mageneingangs ist die Faltung eher gleichmäßig, im Fundus sehr ungleichmäßig und die Falten deutlich höher.

Histologisch lässt sich vom Lumen her die typische Schichtung des Magens in Tunica mucosa mit Epithelium mucosae, Lamina propria und Lamina muscularis mucosae; Tela submucosa, Tunica muscularis mit innerer Zirkulär- und äußerer Längsmuskelschicht, sowie Serosa erkennen (LUPPA 1977, LUZ 2002, JACOBSON 2007)

LUPPA (1977) unterscheidet in den oberflächlich liegenden Epithelzellen zwei Zonen. Die Epithelzellen besitzen spezialisierte, kappenartige Ausbildungen. Der Autor unterscheidet zwischen dem apikalen Pol, der der sekretsammelnden Zone des Säugetiermagens entspricht, und dem basalen Pol, welcher den Kern enthält und der von der Golgi-Zone bis zur Zellbasis reicht. Der apikale Pol färbt sich schwach sauer, während die Basis sich basophil zeigt. Sowohl das oberflächliche Epithel der Pylorusregion als auch der Fundusregion zeigt unter der PAS-Färbung positive Reaktionen (JACOBSON 2007) In der Lamina propria mucosae von Corpus und Pars Pylorica sind Drüsen vorzufinden (LUPPA

1977). Im vorderen Bereich ist der Magen drüsenarm, die Anzahl der Drüsen nimmt nach kaudal zu (MUTSCHMANN 1995).

Die Fundusmukosa besteht aus vielen Reihen gerader, tubulärer, oft verzweigter Drüsen, bei denen Ausführungsgang in der Magengrubenregion, Drüsenhals und Drüsenkörper zu finden sind (LUPPA 1977), Drüsenhalszellen einschränkend nicht bei allen, sondern bei den meisten Schlangenarten (JACOBSON 2007). LUPPA (1977) zitiert hier GABE und SAINT GIRON (1972), die aufgrund der Anordnung und des Vorhandenseins der Magendrüsen Reptilien in drei anatomische Typen unterteilen. Die meisten Colubroidae sind dem zweiten Typ zugehörig. Im Drüsenhals befinden sich bei diesem Typ spezielle, schleimsezernierende Nebenzellen, im Drüsenkörper nur erythrophile, seröse, dunkle Zellen „dark cells“, die Mikrovilli tragen. Färberisch zeigen sich die Nebenzellen PAS-positiv, die „dark cells“ hingegen nicht angefärbt. Es wurde bereits von mehreren Autoren die HCl-Produktion in diesen Zellen vermutet (OPPEL 1896, KRANENBURG 1901), während andere diese im Ösophagus vermuteten (JEKSAJEWA 1958). Die Pepsinogenproduktion wurde von anderen Autoren den Drüsenhalszellen (KRANENBURG 1901) zugeschrieben. LUPPA (1977) zitiert in diesem Zusammenhang zusätzlich Arbeiten von HIRANO (1926a, 1926b, 1927), JEKSAJEWA (1958a, 1958b), KRAUSE (1922) und STALEY (1925). LUPPA (1977) konnte in weiteren Untersuchungen nachweisen, dass die „dark cells“ die Funktionen von Belegzelle und Hauptzelle kombinieren, was schon von WRIGHT et al. (1957), GABE und SAINT GIRON (1964), LUPPA (1961), sowie FERRI (1971) vermutet wurde. Von LUPPA (1977) wurde zudem hohe Enzymaktivität, speziell von Hydrolasen, Oxidoreduktasen, Lyasen, Esterasen und Synthetasen für diese Zellen beschrieben. Während GABE und SAINT GIRON (1972) diese Zellen als „dark cells“ bezeichnen, nennt LUPPA (1977) sie „main cell“, NORRIS (1959) „fundic cells“, und JACOBSON (2007) benennt sie auch als „oxyntico-peptic – cells“.

Enteroendocrine Zellen beschreibt dieser Autor als über Magen und Darmtrakt verteilt. Die Drüsen enden einzeln oder in Paaren in den Magengruben (LUPPA 1977). Diese zylindrischen bis trichterförmigen Magengruben sind im gesamten Magen mit kubischen Zellen mit basal situierten Kernen ausgelegt. Lumenwärts gehen die Zellen in ein hochprismatisches Epithel über, dessen ovale, longitudinal ausgerichteten Kerne an der Zellbasis liegen.

Die Zellen im Drüsenhals zeigen je nach Füllungszustand zwei Ausprägungen, faßartige Formen mit flachen Zellkernen an der Basis und kubische Zellen mit runden Kernen. Die tubulären Drüsen der Pars pylorica beschreibt JACOBSON (2007) als kürzer, weniger verzweigt als die Fundusdrüsen und von mukösen Zellen gekennzeichnet. Saure

Glykokonjugate sind bei Schlangen nur durch Alzianblau-Färbung in den Pylorusdrüsen nachweisbar.

Im Drüsenbereich des Magens sind außerdem enteroendocrine Zellen, die Vesikel sekretorischer Proteine, Peptide, Amine und Hormone enthalten (JACOBSON 2007) vorhanden.

4.3 Dünndarm

Der Dünndarm von Schlangen verläuft im Gegensatz zu anderen Reptilienarten relativ kurz und gerade mit wenigen Kurvaturen (JACOBSON 2007). PARSONS und CAMERON (1977) beschreiben artunterschiedliche Oberflächen mit verschiedenen Faltungen oder netzartigen Strukturen. Die im Darm verlaufenden Falten bei *Thamnophis sirtalis* sind in Längs- und Transversalrichtung angeordnet und werden im kaudalen Darmabschnitt gerader und flacher (REIS und LYONS 1943) beschreiben eine Zunahme der Transversalfalten in den distalen Dünndarmabschnitten. Die histologische Schichtung gleicht der von Säugern, jedoch beschreiben REIS und LYONS (1943) das Fehlen einer Lamina muscularis mucosae für *Thamnophis sirtalis*. Tunica mucosa, Tela submucosa, Tunica muscularis und Serosa sind deutlich erkennbar. Kaudal des kranialen Dünndarms ist eine weitere Unterteilung der Dünndarmabschnitte wie beim Säuger nicht möglich.

Das Vorhandensein von Zotten wird in der Literatur widersprüchlich diskutiert (REIS und LYONS 1943, LUPPA 1977, STARCK und BEESE 2002, LUZ 2002, JACOBSON 2007), Krypten sind nicht vorhanden (LUPPA 1977, JACOBSON 2007).

Das Darmepithel wird als einreihig (REIS und LYONS 1943, LUPPA 1977) oder fütterungsabhängig ein- oder mehrreihig (STARCK und BEESE 2002) beschrieben.

Aufgrund seiner Funktion enthält das Darmepithel hauptsächlich absorbierende Epithelzellen, die sich PAS-negativ darstellen, sowie PAS-positive Becherzellen (JACOBSON 2007). BAECKER (1934), sowie für *Thamnophis sirtalis* REIS und LYONS (1943), beschreiben eine große Zahl schleimbildender Zellen im Duodenum, die streckenweise das Epithel vollständig verdrängen. LUPPA (1977) hingegen beschreibt die Becherzellen im Dünndarm von Reptilien als unregelmäßig verteilt zwischen den Saumzellen liegend. Sie enthalten Schleim oder dessen Vorstufen und einen ovoiden, basalen Zellkern. Das diese Zellkerne umgebende Zytoplasma ist stärker anfärbbar als das restliche Zytoplasma. Die Mikrovilli tragenden Enterozyten weisen eine granuläre, eine „klare“ Zone und eine mitochondriale Zone auf. Der Zellkern ist oval und vertikal ausgerichtet.

Während REIS und LYONS (1943) in der Mukosa von *Thamnophis sirtalis* Becherzellen, wandernde Lymphozyten und Epithelzellen beschreiben, beschreibt LUPPA (1977) für Reptilien generell das Vorkommen enterochromaffiner Zellen, und bei einigen Reptilienarten Panethzellen. Diese sind bei verschiedenen Reptilienarten unterschiedlich positioniert oder fehlen ganz, generell nimmt ihre Anzahl zum Ende des Darms zu, wobei sie immer solitär stehend zu finden sind. Ihre Funktion gleicht der von Säugetieren.

Während REIS und LYONS (1943) das Dünndarmepithel von *Thamnophis sirtalis* als einschichtiges Epithel beschreiben, bezeichnen STARCK und BEESE (2002) das Dünndarmepithel von *Thamnophis sirtalis parietalis* als Übergangsepithel, das sich je nach Nahrungssituation ein- oder mehrschichtig darstellt. Die Lymphorgane des Darms liegen bei Schlangen im Allgemeinen in der Mucosa, zum Teil auch in der Submucosa (PETERS 1985), Lage und Ausprägung sind artspezifisch unterschiedlich. REIS und LYONS (1943) beschreiben Lymphgewebe in der Mucosa von *Thamnophis sirtalis*. Die Lamina propria mucosae ist weiterhin durch Gefäße und Bindegewebe charakterisiert. Sie ist stark gefaltet und füllt das Lumen des Darms fast vollständig aus (REIS und LYONS 1943). Die sich anschließende Lamina muscularis mucosae ist sehr dünn und muss nicht zwangsläufig aus zwei Muskelschichten bestehen (REIS und LYONS 1943, LUPPA 1977, JACOBSON 2007). REIS und LYONS (1943) beschrieben für *Thamnophis sirtalis* eine nur schwache, nicht durchgängige Lamina muscularis mucosae im Dünndarm.

Die Tela submucosa ist aufgrund der geringen Schichtdicke von der Lamina propria schlecht abzugrenzen (REIS und LYONS 1943) und besteht aus lockerem Bindegewebe mit wenig elastischen Fasern, dazwischen befinden sich Gefäße. An diese Wandschicht schließt sich die zweischichtige Tunica muscularis mit einer inneren Ringmuskel- und einer äußeren Längsmuskelschicht nach außen hin an. Im kranialen Duodenum beschreiben diese Autoren eine stark verdickte Quer- und Längsmuskulatur, deren gefaltete Lage sie als fixationsbedingt ansehen. Zwischen beiden Muskelschichten beschreiben REIS und LYONS (1943) das solitäre Auftreten von zwei bis vier runden Zellkernansammlungen, welche sie als Neurone des Auerbach-Plexus benennen. Außen ist der Muskulatur eine Serosa aus einfachem Plattenepithel aufgelegt.

4.4 Dickdarm

Das Caecum markiert den Übergang vom Dünndarm zum Dickdarm. Hier gibt es artspezifisch große Unterschiede in der Ausprägung dieses Darmabschnittes, bei Pythons

wurde ein sehr ausgeprägtes Caecum beschrieben (JACOBSON 2007) während PETERS (1985) es bei Schlangen allgemein als mehr oder weniger stark ausgeprägt charakterisiert. Generell ist, wie beim Dünndarm auch, der Dickdarm herbivorer Arten länger als der carnivorer Reptilien (JACOBSON 2007). Ausgeprägte Längsfalten sind im Dickdarm generell nicht vorhanden (PARSONS und CAMERON 1977). Die Oberfläche des Dickdarms kann Falten aufweisen (MUTSCHMANN 1995, JACOBSON 2007) oder sich nach Dehnung als glatt darstellen (PARSONS und CAMERON 1977, JACOBSON 2007). Im kranialen Colon von *Thamnophis sirtalis* fanden PARSONS und CAMERON (1977) kurze Aufwerfungen, die im weiteren Verlauf in deutliche prominente Längsfalten übergehen; das mittlere Colon ist glatter als der kraniale Abschnitt. Hier zeigen sich unregelmäßig große Längsfalten, die restliche Wand ist mit feinen, längs verlaufenden Streifungen versehen. Der kaudale Colonabschnitt besitzt keine Falten, die Wand ist vielmehr von feinen Längsfältchen durchsetzt.

Die histologische Schichtung des Dickdarms entspricht der des Dünndarms. Bei der vorwiegenden Anzahl der Reptilien besteht das Dickdarmepithel aus einem einreihigen Zylinderepithel aus absorbierenden und mucinhaltigen Zellen und unterscheidet sich damit nicht vom Epithel des Dünndarms. Während sich bei einigen Spezies im kranialen Abschnitt des Dickdarms Krypten befinden, sind sie bei den meisten Reptilien nicht oder nur ansatzweise ausgebildet (JACOBSON 2007). Im kloakennahen Abschnitt des Colons befindet sich bei den *Colubroidae* ein mehrschichtiges Zylinderepithel mit zwei Zelltypen; schleimbildende Zellen mit gemischt neutralen und sauren Mukopolysacchariden, und solche, die saures Muzin enthalten, wobei das Vorkommen neutraler Mukopolysaccharide gegenüber dem Dünndarm zunimmt (LUPPA 1977). Die Lamina propria mucosae weist artspezifisch große Unterschiede auf, so ist zum Beispiel bei *Cordylus* eine deutliche Unterteilung in eine zentrale, eine lymphatische, eine retikuläre und eine fibrilläre Zone zu finden. Im Gegensatz zum Dünndarm ist die Muscularis mucosae deutlich ausgebildet, sie besteht aus einer inneren Zirkulär- und einer äußeren Längsmuskelschicht. Die Tunica muscularis ist stark ausgeprägt, sie besteht wie im Dünndarm aus zwei Muskellagen, wobei die Zirkulärmuskelschicht meist deutlicher ausgeprägt ist. Ein einschichtiges Plattenepithel bildet die Serosa.

5 Allgemeines zu den angewandten Methoden

5.1 Allgemeines zur Gewebefixierung

Die Fixierung dient dem Gewebeerhalt und der Verhinderung postmortalen Autolyse durch Insolubilisierung der organischen Matrix. Chemische Fixierung wird durch Perfusionsfixierung oder Immersionsfixierung erwirkt (ROMEIS 1989a).

Fixierung von Proteinen geschieht durch Denaturierung und Zerstörung ihrer Komplexstruktur; die Verschiebung hydrophober Proteinanteile resultiert dabei in geringerer Hydratisierbarkeit. Durch Aldehydfixierung mit Formaldehyd oder Glutaraldehyd werden die Proteinfragmente auch ohne vorherige Denaturierung vernetzt, was für Enzymnachweise in der Affinitätshistochemie von großer Wichtigkeit ist (ROMEIS 1989a). Die Reaktion der Proteine mit der Fixierlösung führt zu einem erniedrigten pH-Wert und einer stärkeren Eosinophilie bei Anfärbung.

Die Vernetzung von Lipiden, die durch organische Lösungsmittel aus dem Präparat gelöst werden, geschieht durch Osmiumtetroxyd (oder Chromat). Dieses bildet Additionsverbindungen mit Aminogruppen und Komplexbildung mit Sulfhydrylgruppen zwischen ungesättigten Fettsäuren und diesen mit reaktiven Gruppen von Proteinen. Es kann dabei auch zur Oxidation von Sulfhydrylgruppen zu SO_2 - und SO_3^- -Gruppen kommen. Niedermolekulare Kohlenhydrate sind mit Fixanzien nicht fixierbar, hochmolekulare Kohlenhydrate werden durch die sie umgebenden Lipide fixiert; Glykoproteine durch ihren Proteinanteil. Die Fixierung von sauren Mukosubstanzen erfolgt durch Salzbildung bzw. Fällung (ROMEIS 1989a).

Das Äquivalentbild der Strukturen ist fixierungsabhängig, da Fixanzien durch osmotische Effekte und pH-Verschiebung diverse morphologische Veränderungen hervorrufen können.

5.2 Allgemeines zur Hämalan-Eosin-Färbung

Der vormalig in der Textilindustrie eingesetzte natürliche Farbstoff Hämatoxylin wird mittels Etherextraktion aus dem südamerikanischen Blauholz-Baum (*Hämatoxylon campechianum*) gewonnen und wurde erstmalig von Waldeyer (1863) und Böhmer (1865) in der histologischen Technik verwendet. Wirksamer Farbstoff ist das Häm (Hämatoxylin), Oxidationsprodukt des Hämatoxylins. Die färbende Wirkung des Farbstoffs wird durch Beizung erreicht. Dabei bilden sich durch Zugabe von Alaunsalzen mit mehrwertigen Kationen wie z.B. Al^{3+} , Cr^{3+} , Fe^{3+} Chelatkomplexe, die Hämatoxylinlacke. Hämalan wird

durch Bildung von Hämatoxylinlacken des Aluminiums mit Alaun (Kalialaun oder Ammoniumalaun) hergestellt. Die selektive Kernfärbung der Färbelösungen wird durch Azidität der Lösung erreicht, die basophile Strukturen wie die Phosphatgruppen der Zellkerne bindet. Die Ionisation des Gewebes bzw. Dissoziation der Karboxylgruppen im Gewebe wird durch Glycerin-oder Alkoholzusätze, sowie ein saures Milieu verhindert (ROMEIS 1989b). Der Farbstoff ist zunächst rot, durch Spülen in Leitungswasser kommt es zu einer Erhöhung des pH-Wertes und einem Farbumschlag ins Blaue. Da Hämatoxylinlacke bei höherem pH-Wert schlecht löslich sind, ist dies gleichzeitig eine Fixierung. Es sind verschiedene hämatoxylinbasierte Farblösungen bekannt, in der vorliegenden Arbeit wurde die Hämatoxylinfärbung nach Mayer angewandt, welche durch Zugabe von Kalialaun gebeizt wurde.

Eosin, ein saurer roter Farbstoff, dessen Name sich vom griechischen Wort „εως“, Morgenröte, ableitet, wird eingesetzt, um basische Gewebestrukturen rot anzufärben.

Diese Färbung wurde als Übersichtsfärbung angewandt, sie zeigt Zellkerne blau, andere Gewebeteile und Zytoplasma rot (ROMEIS 1989b).

5.3 Allgemeines zur Alzianblau-PAS- Färbung

Alzianblau ist ein wasserlöslicher Phthalocyaninfarbstoff, der zur selektiven Färbung von Mukosubstanzen verwendet wird. Saure Mukosubstanzen zeigen sich unter der Färbung blau, während die Kerne nicht mit angefärbt werden. Als Gegenfärbung dient die PAS (periodic acid-Schiff stain)-Färbung, oder auch Perjodsäure-Leukofuchsinfärbung. Die PAS-Reaktion dient dem Nachweis unsubstituierter 1,2 Glykolgruppen. Diese oxidieren unter dem Einfluss von Perjodsäure zu Aldehyden. Äquivalentstrukturen, bei denen die Hydroxylgruppen der 1,2 Glykole durch Amino- oder Alkylaminogruppen ersetzt sind, oder ihre Oxidationsprodukte, werden ebenfalls erfasst. Die entstandenen Aldehydgruppen reagieren mit dem Schiffschen Reagenz zu einer roten Verbindung. Eine negative PAS-Reaktion ergibt sich bei nicht benachbarten oder substituierten Hydroxylgruppen wie z.B. bei sauren Mukopolysacchariden (ROMEIS 1989d).

PAS dient dem Nachweis neutraler Mukopolysaccharide, Muko-und Glykoproteinen, Glykolipiden, ungesättigten Fetten und Phospholipiden, sowie Polysacchariden.

Die Alzianblau-PAS-Färbung zeigt Polysaccharide und neutrale Mukosubstanzen rot, PAS-negative saure Mukosubstanzen blau und PAS-positive saure Mukosubstanzen als Mischfarbe (ROMEIS 1989d).

5.4 Allgemeines zur Trichromfärbung nach Goldner

Die Trichromfärbung nach GOLDNER (1938) ermöglicht die Differenzierung von Epithel- und Muskelgewebe gegenüber Kollagenfasern. Zellkerne stellen sich blau-schwarz, Zytoplasma orangerot, Erythrozyten orange gelb, Muskulatur ziegelrot und Bindegewebe und saure Mukosubstanzen grün dar (ROMEIS 1989c).

5.5 Allgemeines zur Metachromatischen Färbung mit Toluidinblau

Der Thiazinfarbstoff Toluidinblau, auch Toloniumchlorid, färbt Gewebe und Zellkerne kontrastreich blau an. Der basische Farbstoff besitzt metachromatische Eigenschaften und bindet mit hoher Affinität basophile Strukturen (ROMEIS 1989b).

5.6 Allgemeines zum NADPH-Diaphorase Staining

Das NADPH-Diaphorase Staining ist ein selektiver histochemischer Nachweis zur Aktivität der NO-Synthase im Bereich des Nervengewebes und des Gefäßendothels. Bei Anwesenheit von β -Nicotinamid-Adenin-Dinucleotid-Phosphat (NADPH) katalysiert die NADPH-Diaphorase die Reduktion von Tetrazoliumblau. Dabei wird wasserunlösliches Formazan gebildet, was sich als blau-violettes Präzipitat zeigt (URSELL und MAYES, 1995).

5.7 Allgemeines zur Immunhistochemie

Die Immunhistochemie wurde 1941 erstmals mit dem Einsatz fluoreszenzgekoppelter Antikörper angewandt.

Ziel der Immunhistochemie ist der selektive Nachweis und die Identifikation antigener Komponenten in Zellen und Geweben, die durch spezifische Antikörper nachgewiesen werden. Diese können mit Fluoreszenzfarbstoffen, Enzymen, Isotopen oder partikuläres Material wie Gold, gekoppelt sein. Die eingesetzten Antikörper sind in B-Lymphozyten gebildete Gammaglobuline der Klassen IgG, IgM, IgA, IgD und IgE, wobei in der Immunhistochemie vor allem IgG-Antikörper zum Tragen kommen. Die einzelnen Antikörper sind y-förmig und bestehen aus einem für den Wirtsorganismus und den Antikörper spezifischen Fc-Bereich und dem gegabelten Fab-Fragment, welches das spezifische

Antigen-Epitop bindet (SCHINDLER 2005). Die direkte Immunhistochemie weist das Antigen direkt mit einem markierten (Primär-) Antikörper nach. Bei der indirekten Immunhistochemie ist die Detektion der Bindung eines markierten Sekundärantikörpers am Fc-Stück des Primärantikörpers beweisend für das Vorhandensein des Antigen-Epitops.

5.7.1 Allgemeines zu Neuropeptid Y (NPY)

Neuropeptid Y (NPY), erstmals aus Schweinehirnen isoliert, ist ein Neuropeptid aus 36 Aminosäuren (TATEMOTO 1982), das vor allem im Gehirn und auf noradrenergen Neuronen von Säugetieren vorkommt. NPY ist an zentralnervösen Steuerungen von Hunger (INUI 1999), hormonellen Regelkreisen (KALRA et al. 1992), Gedächtnisleistungen (FLOOD et al. 1985), zirkadianen Rhythmen (HALL et al. 1999), Motilität von Magen-Darm-Trakt, u.a. beteiligt. SCHWIPPERT et al. (1995) wiesen Einfluss auf die visuelle Regulation nach, FURTINGER et al. (2001) und SILVA et al. (2005) konnten einen Einfluss von NPY im epileptischen Geschehen nachweisen. Im peripheren Nervensystem ist das Neuropeptid an der Regulation von Blutdruck beteiligt (MATURI et al. 1989, MUTT et al. 1989) und wirkt als Neurotransmitter in Nebenniere und sympathischen Neuronen (SUNDLER et al. 1983, SCHALLING et al. 1991). NPY wirkt über G-Protein gekoppelte Rezeptoren, von denen 6 bekannt und 5 bereits kloniert sind (FUNKE 2005).

5.7.2 Allgemeines zu HNK-1

Der monoclonale IgM-Antikörper HNK-1 wurde erstmals von ABO (1981) als gegen von natürlichen Killerzellen selektiv exprimierte Antigene beschrieben und bezieht seinen Namen aus der Ausrichtung gegen menschliche Killerzellen (human natural killer cells). Das HNK-1 Epitop befindet sich auf Molekülen der Ig-Superfamilie (L1, PMP-22, P0, NCAM (neuronales Zelladhäsionsmolekül), MAG (Myelin-assoziiertes Glykoprotein)), die an der Bildung von Zelladhäsionen und Interaktionen extracellulärer Matrix involviert sind (KRUSE et al. 1984, FAISSNER 1987, PESHEVA et al. 1987, HOFFMANN und EDELMAN 1987). Für das meist erforschte transmembrane Glykoprotein L1, welches das L2/HNK-1 Kohlenhydratepitop trägt (MOOS et al. 1988), ist die Vermittlung interzellulärer und Zell-Substrat Interaktionen (CHOU et al., 1986) bekannt, es spielt eine wichtige Rolle beim axonalen Wachstum, der axonalen Leitung, sowie der Migration von Zellen im sich entwickelnden Nervensystem (KÜNEMUND et al. 1988, SCHACHNER 1997, BRÜMMENDORF et al. 1998), und reguliert Zellerkennungsmechanismen im zentralen und peripheren Nervensystem (KEILHAUER et al. 1985, KOWITZ et al. 1993, MARTINI

1994). NCAM spielen eine wichtige Rolle in der neuronalen Entwicklung, der Neuroblastenmigration und dem gerichteten Neuritenwachstum (EDELMAN 1985, OLSEN 1995, BÜTTNER 2004).

Des Weiteren ist HNK-1 ein Marker für sich früh differenzierende Neuralleistenzellen (TUCKER et al. 1984, VINCENT et al. 1983d, TUCKER et al. 1986, NEWGREEN et al. 1990). In späteren Entwicklungsstadien ist HNK-1 Marker des zentralen, peripheren und enterischen Nervensystems (McGARRY 1983, BRONNER-FRASER 1986, SCHULLER-PETROVIC 1983, LUIDER et al. 1992, HAMMER et al. 1993), und konnte in dieser Funktion neben den klassischen Versuchstieren in verschiedenen anderen Spezies nachgewiesen werden (TUCKER et al. 1988, DENNIS et al. 1988, NORDLANDER et al. 1989, METCALFE et al. 1990, TAKEI et al. 1993).

Stärke und Dauer der Expression von HNK-1-Epitopen ist von Spezies, Gewebetyp und Alter des Organismus abhängig (MIKOL et al. 1988, LUIDER et al. 1992, GAARDSVOLL 1993, ANDERSSON 1993, ARNHOLD et al. 2004)

5.7.3 Allgemeines zu Neurofilamenten (NF)

Neurofilamente (NF) sind ein wesentlicher Bestandteil des Cytoskeletts von Nervenzellen. Sie sind im Durchmesser 10 nm groß und Hauptstrukturelemente von neuronalen Axonen, Dendriten und Perikaryen in ZNS und PNS. Klinische Relevanz erhält der antikörperbasierte Nachweis von NF beispielsweise in der Tumordifferenzierung (LEHTO et al. 1983a, LEHTO et al. 1983b, DEBUS et al. 1983) oder zur Verifizierung spezifischer neuronaler Krankheitsbilder (KLÜCK et al. 1984, HUAROTO LEVY 2004).

5.8 Allgemeines zur Transmissions-Elektronenmikroskopie

Elektronenmikroskopisch kann mit ca 1 nm eine höhere Auflösung erreicht werden als mit dem Lichtmikroskop. Das 1931 entwickelte Prinzip beruht auf Abbildung durch Absorption von Elektronen an spezifischen Strukturelementen. Ein mittels Haarnadelkathode im Vakuum erzeugter Elektronenstrahl wird im Wehnelt-Zylinder gebündelt und mit hoher Geschwindigkeit auf die Anode gelenkt.

Als Fixans wird in Cacodylatpuffer gelöstes Glutardialdehyd, verwendet. Durch Reaktion der reaktiven Aldehydgruppen des Glutardialdehyds mit Aminosäureseitenketten kommt es zu Proteindenaturierung; mit weiteren freien Aldehydgruppen kommt es zu weiteren Vernetzungen und Gewebshärtung.

Die Kontrastierung erfolgt mit Osmiumtetroxid. Elektronenabsorption steigt mit Gewicht der Kontrastsubstanz oder des Fixans; Osmium ist kontrastreicher als Aldehydfixation, da jedoch Schwermetalle starke Gewebszerstörung herbeiführen, wird mit Aldehyden und Osmium fixiert.

Die Einbettung in Kunstharz (Epon, Araldit) beruht auf dem Prinzip der Polymerisation eines niedermolekularen Stoffes zu einer festen Substanz, die sich aufgrund ihrer harten Konsistenz gut zur Herstellung von Semidünnschnitten zur Übersicht geeigneter Präparatausschnitte, sowie Dünnschnitten auf dem Ultramikrotom eignet.

Eine verstärkte Kontrastierung der Dünnschnitte wird durch Doppelkontrastierung mit Uranylazetat und Blei (REYNOLDS 1963) erreicht.

6 Material und Methoden

6.1 Versuchstiere und Präparation

Die im Rahmen dieser Arbeit verwendeten Tiere waren ausnahmslos gesunde, regelmässig mit kleinen Krebsen und Fischen gefütterte Strumpfbandnattern (*Thamnophis sirtalis sirtalis*) aus der Zucht eines Privathalters in Bonn. Das Alter der Tiere betrug 8 – 14 Monate. Die Zahl der untersuchten Tiere betrug 9.

Die Tiere wurden durch Dekapitation getötet. Mit einem sterilen Skalpell wurden der Ösophagus, der Magen und der Darm herauspräpariert. Direkt danach wurden Ösophagus, Magen, Dünndarm und Dickdarm jeweils in drei Teile geteilt. Vom kranialen Ösophagus wurde der kraniale Anteil, von den restlichen Gewebeteilen jeweilig der mittlere Teil entnommen. Die Probenentnahme für die elektronenmikroskopischen Untersuchungen erfolgte mittels zwei gekreuzter Rasierklingen.

6.2 Gewebsaufarbeitung für Paraffinschnitte und Gefrierschnitte

Die Proben wurden tiefgefroren, in Paraffin, Einbettmedium für Gefrierschnitte oder Kunststoff eingebettet. Es wurden von den entnommenen Proben Gefrierschnitte, Paraffinschnitte und Semi- bzw. Ultradünnschnitte angefertigt, die Organe wurden sowohl im histologischen Querschnitt als auch im Längsschnitt betrachtet.

6.2.1 Gewebefixierung für Paraffinschnitte und Gefrierschnitte

Die Fixierung der Gewebeproben erfolgte für die lichtmikroskopische Untersuchung in Schnappdeckelgläschen (Fa. Plano) durch Immersionsfixation in 4%iger Paraformaldehyd-Lösung für 24 Stunden bei 4 °C.

6.2.2 Probenaufarbeitung für Gefrierschnitte

Die fixierten Proben wurden 12 Stunden in 0,1 M phosphatgepufferter Salzlösung (PBS), pH 7,4, eingelegt. Innerhalb dieser Zeit wurde dreimal das Puffermedium erneuert.

Anschließend wurden die Proben in 30%ige Succroselösung überführt. Die bisher beschriebene Gewebeaufarbeitung erfolgte unter konstanten Bedingungen bei 4 °C.

Nach 12-stündiger Inkubation wurden die Gewebeproben mit Einbettmedium für Gefrierschnitte (Leica Microsystems Nussloch GmbH) ummantelt und nach 30 Minuten Einwirkdauer bei einer Temperatur von -80 °C eingefroren.

Die gefrorenen Proben eigneten sich dazu, auf einem Kryostat (Leica CM 3050S) bei einer Temperatur von – 25 °C Schnitte in einer Dicke von 4-7µm herzustellen, die auf beschichteten Objektträgern (Polysine, Menzel GmbH, Braunschweig) aufgezogen wurden.

6.2.3 Probenaufarbeitung für Paraffinschnitte

Die fixierten Proben wurden 3 Tage in 0,1 M phosphatgepufferter Salzlösung (PBS), pH 7,4, eingelegt. Innerhalb dieser Zeit wurde dreimal das Puffermedium erneuert. Die Einbettung erfolgte im Autotechnikon (Thermo Shandon Hyperclean, Fa. Shandon, USA). Dabei wurden die Proben für jeweils 90 Minuten in 50%igem, 70%igem (zweimalig), und 96%igem, vergällten Ethanol entwässert. Dem schloss sich eine einstündige Entwässerung in 96%igem, vergällten Ethanol an. Es folgte eine dreimalige, jeweils einstündige Inkubation in 100%igem Isopropanol und eine zweimalige, auch jeweils einstündige Inkubation in Xylol-Intermedium (Carl Roth GmbH, Karlsruhe). Daraufhin wurden die Proben 90 Minuten und darauf folgend nochmals 120 Minuten in flüssiges Paraplast Plus (Fa. Tyco Healthcare, Mansfield, USA) bei einer Temperatur von 58 °C eingelegt.

Schliesslich wurden die Proben an der Gießstation Tissue Block System TBS 88 (Fa. Medite) in Paraplast Plus (Fa. Tyco Healthcare, Mansfield, USA) eingebettet.

Die Proben eigneten sich dazu, auf einem Rotationsmikrotom (Microm HM 335) mit einer Dicke von 4-7µm geschnitten zu werden. Sie wurden aus einem Wasserbad mit 40 °C

warmen Aqua dest. auf beschichtete Objektträger (Polysine, Menzel GmbH, Braunschweig) aufgezogen. Zum Trocknen wurden die Objektträger für 12 Stunden im Wärmeschrank bei 37 °C aufbewahrt.

6.3 Färbemethoden

Zur Vorbereitung wurden von den vorliegenden Geweben Schnitte mit einer Dicke von 4-7 µm für die Doppelfärbungen mit Hämalun-Eosin und Alzianblau-PAS hergestellt und aus dem 40°C warmen Wasserbad auf beschichtete Objektträger (Polysine, Menzel GmbH, Braunschweig) aufgezogen. Die Schnittdicke für das NADPH-Diaphorase-Staining betrug 25µm, die Schnitte wurden hier ebenfalls auf beschichtete Objektträger (Polysine, Menzel GmbH, Braunschweig) aufgezogen.

6.3.1 Färbung mit Hämalun-Eosin

Vor der Färbung wurden die Paraffinschnitte in einer absteigenden Alkoholreihe mit Xylol, 100%igem, 90%igem und 70%igem Äthylalkohol für jeweils 5 Minuten entwässert.

Die Schnitte wurden ca. 2 Minuten in Aqua dest. gegeben. Die Gefrierschnitte wurden für 4 Minuten und die Paraffinschnitte für 10 Minuten in Hämalun nach Mayer eingelegt und danach in Aqua dest. gespült. Das Bläuen der Schnitte erfolgte durch anschließendes Einsetzen in Leitungswasser für 4 Minuten. Nach Einsetzen in Eosin für 2 Minuten wurden die Präparate in Aqua dest. gewaschen. Einer aufsteigenden Alkoholreihe mit Äthylalkohol (Carl Roth GmbH, Karlsruhe) in den Konzentrationen 70%, 90% und 100% für jeweils 1 Minute zur Entwässerung der Schnitte und Einsetzen in Xylol (Carl Roth GmbH, Karlsruhe) folgte das finale Eindecken unter Glas mit Entellan (Fa. Merck, Darmstadt).

Die Auswertung der Präparate erfolgte unter dem Lichtmikroskop (Leica DM LB 2, Leica Microsystems, Wetzlar).

6.3.2 Färbung mit Alzianblau-PAS

Die Entwässerung Paraffinschnitte erfolgte wie in 6.3.1 beschrieben.

Die Schnitte wurden für 15 Minuten in Alzianblau eingesetzt, dann folgte die Spülung in Aqua dest.. Einer zehnminütigen Oxidation in 1%iger Perjodsäurelösung folgte ein 5-minütiges Wässern in Leitungswasser. Im Folgenden wurden die Schnitte 15 Minuten in Schiff'sches Reagenz (Sigma Aldrich Chemie GmbH, Steinheim) eingestellt, dem ein

Waschen in Sulfitwasser für 3 mal zwei Minuten folgte. Daraufhin wurden die Schnitte 10 Minuten in Leitungswasser gewässert. Es folgte eine aufsteigende Alkoholreihe wie in 6.3.1 beschrieben und das finale Eindecken unter Glas mit Entellan (Fa. Merck, Darmstadt). Die Auswertung der Präparate erfolgte unter dem Lichtmikroskop (Leica DM LB 2, Leica Microsystems, Wetzlar).

6.3.3 Trichromfärbung nach Goldner

Nach Entparaffinierung, wie in 6.3.1 beschrieben, wurden die Präparate für 10 Minuten in Hämatoxylin nach Weigert (Chroma Waldeck GmbH, Münster) eingesetzt. Die Differenzierung der Präparate erfolgte in 2ml 25%HCl + 100 ml 70% Isopropanol. Nach Wässerung für 10 min in Aqua dest. wurden die Objektträger 5 Minuten in Goldner -Lösung 2, 30 Sekunden in Goldner-Lösung 3 und 4 Minuten in Goldner-Lösung 4 eingesetzt. Zwischen und nach den Färbungen erfolgte eine Spülung mit 0,5%iger Essigsäure (Carl Roth GmbH, Karlsruhe). Final erfolgten das Entwässern wie in 6.3.1 beschrieben und das Eindecken der Präparate mit Entellan (Fa. Merck, Darmstadt).

6.3.4 Metachromatische Färbung mit Toluidinblau

Nach Entparaffinierung wie in 6.3.1 beschrieben wurden die Präparate für 15 Minuten in Toluidinblau 0,8%ig (Fluka Chemie GmbH, Buchs, Schweiz) eingesetzt und danach in Aqua dest. gespült. Die Differenzierung erfolgte in 0,5%iger Essigsäure (Carl Roth GmbH, Karlsruhe). Nach nochmaligem Spülen in Aqua dest. wurden die Präparate mit Filterpapier getrocknet und nach Einsetzung in Xylol mit Entellan (Fa. Merck, Darmstadt) eingedeckt.

6.3.5 NADPH-Diaphorase Staining

Die Objektträger mit den Gefrierschnitten wurden 30 Minuten lang in 0,1 molare phosphatgepufferte Salzlösung (PBS), pH 7,4, eingesetzt, und dreimalig jeweils nach 10 Minuten in frischem PBS ausgewaschen. Nachfolgend wurden die Objektträger in das NADPH-Diaphorase-Staining eingesetzt und 60 Minuten bei 37 °C inkubiert. Zum Abstoppen der Reaktion wurden die Schnitte dreimalig mit PBS-Puffer ausgewaschen. Die Eindeckung erfolgte mit Kaiser's Glycerol Gelatine (Fa. Merck, Darmstadt).

Die Auswertung der Präparate erfolgte unter dem Lichtmikroskop (Leica DM LB 2, Leica Microsystems, Wetzlar).

6.3.6 Immunhistochemische Färbungen

Der eingesetzte primäre Antikörper gegen NPY (Fa. Sigma) wurde aus Kaninchen gewonnen und im Verhältnis 1:5000 in 0,8%iger BSA-Lösung angesetzt.

Als sekundärer Antikörper diente goat anti rabbit Dylight 549 (Fa. Pierce) im Verhältnis 1:000 in TBS.

Der eingesetzte primäre Antikörper gegen HNK-1, anti-HNK-1 (ATCC, Manassas, Virginia TIB109 200 USA, hybridoma supernatant), wurde aus Mäusen isoliert und im Verhältnis 1:10 in 0,8%iger BSA-Lösung angesetzt.

Als sekundärer Antikörper diente goat anti mouse Dylight 549 (Pierce) im Verhältnis 1:000 in TBS.

Der eingesetzte primäre Antikörper gegen Neurofilamente (BioGenex, California, USA) wurde aus Mäusen isoliert und im Verhältnis 1:200 in 0,8%iger BSA-Lösung angesetzt.

Als sekundärer Antikörper diente goat anti mouse Dylight 549 (Pierce) im Verhältnis 1:000 in TBS.

6.3.6.1 Durchführung der immunhistologischen Färbung

Die Präparate jedes Tieres wurden im einzelnen Durchgang immunhistologisch aufgearbeitet.

Die mit Gefrierschnitten beschickten Objektträger wurden in TBS viermalig für jeweils 10 Minuten gewaschen. Es erfolgte die Permeabilisierung mit 0,25% Triton X in TBS für 10 Minuten, an die sich eine dreimalige, jeweils fünfminütige Waschung mit TBS anschloss. Nachfolgend wurden die Schnitte für 40 Minuten in 5% BSA in TBS eingesetzt. Nach zweistündiger Inkubation mit dem primären Antikörper gelöst in 0,8%igem BSA bei Raumtemperatur folgte ein Waschschriff mit TBS für 5 mal 5 Minuten. Daraufhin wurden die Schnitte für 60 Minuten mit dem sekundären Antikörper, gelöst in TBS, beschickt und nachfolgend für 5 mal 5 Minuten in TBS gewaschen. Einer Gegenfärbung mit Höchst-Dye (Hoechst AG, Frankfurt am Main) im Verhältnis 1:1000 in Puffer schloss sich 3 mal eine 5-minütige Spülung in TBS an. Die Schnitte wurden final mit Aqua Poly Mount (Fa. Polysciences Inc.) eingedeckt.

Die Auswertung der Proben erfolgte am Fluoreszenzmikroskop (Axiophot), die Proben wurden mit Licht der Wellenlängen 350 nm und 596 nm angeregt.

6.3.6.2 Positivkontrollen und Negativkontrollen

Bei jedem Färbedurchgang wurden eine Positivkontrolle, eine Negativkontrolle und eine interne IHC-Kontrolle mitgeführt, um die Spezifität der Reaktion zu gewährleisten.

6.4 Elektronenmikroskopie

6.4.1 Fixierung der Proben für Elektronenmikroskopie

Die für die Elektronenmikroskopie benötigten Gewebeproben wurden für 12 Stunden in Glutardialdehyd 2% (6.5.4) immersionsfixiert.

6.4.2 Probenaufarbeitung für Elektronenmikroskopie

Nach der Fixation wurden die Proben für 3x 20 Minuten in 0,1 M Cacodylat-Puffer bei einem pH 7,2 gewaschen und 4 Stunden mit 2% Osmium in 0,1 M Cacodylat-Puffer osmiert. Nach dreimaligem Waschen in Cacodylat-Puffer für jeweils 20 Minuten wurden die Proben für 30 Minuten in Ethanol 50% überführt und danach in Uranylacetat 1% und in Ethanol 70% zur Blockkontrastierung über Nacht abgedunkelt bei 4 °C gelagert. Daraufhin wurden die Proben für 20 Minuten in Ethanol 90% und dreimalig für je 20 Minuten in Ethanol 100% eingelegt; dem folgte ein zweimaliges Einlegen in Ethanol 100% und Propylenoxid im Verhältnis 1:1 für jeweils 20 Minuten. Die Proben wurden dann zweimalig für 40 Minuten in Propylenoxid eingelegt, danach für 4 Stunden in ein Epon (Fa. Sigma Aldrich, Steinheim) - Propylenoxid-Gemisch im Verhältnis 1:1. Es folgte ein 4-stündiges Einlegen in ein Epon-Propylenoxid-Gemisch im Verhältnis 3:1, dann wurden die Proben in reines Epon überführt und über Nacht bei 40°C zur Verdunstung des Propylenoxids im Wärmeschrank gelagert. Die Proben wurden in flache Einbettformen gelegt und in Epon eingegossen; die Aushärtung der Eponblöcke erfolgte innerhalb von zwölf Stunden bei 45 °C und weiteren 48 Stunden bei 60 °C im Wärmeschrank.

6.4.3 Semidünnschnitte

Die auspolymerisierten Eponblöcke wurden auf einem Rotationstrimmer (TM 60, Fa. Reichert) in Pyramidenform rechtwinklig zur Probe zugetrimmt.

Anschließend wurden die Proben mit einem Ultramikrotom (Leica Ultracut UCT) mit einem

Glassmesser geschnitten, die histologische Ausrichtung erfolgte im Querschnitt. Die Präparate mit Schnittdicke von 0,5 µm wurden unter Zuhilfenahme einer Glasperle auf unbeschichtete Objektträger (Menzel GmbH, Braunschweig) aufgebracht und auf einer beheizbaren Streckplatte angetrocknet. Die Anfärbung erfolgte mit 1%iger Methylenblau-Azur-II Färbung nach RICHARDSON et al. (1960).

Nach kurzer Waschung in Aqua dest. wurden die Schnitte getrocknet und mit Entellan (Fa. Merck, Darmstadt) unter Glas eingedeckt.

6.4.4 Dünnschnitte

Die Dünnschnitte wurden auf einem Ultramikrotom (Leica Ultracut UCT) unter Zuhilfenahme eines Standard 45 °C – Diamantmesser (Fa. Diatome, Schweiz) mit einer Interferenzfarbe von Silber bis Grau (70-30 nm) geschnitten. Danach wurden die Schnitte unter Xyloldampf gestreckt und auf mit Formvar – Film (Fa. Serva, Heidelberg) beschickte Kupfernetze (150 mesh hexagonal) aufgezogen.

Die Kontrastierung der Dünnschnitte wurde mit Uranylacetat 1% (wässrig) und Bleicitrat-Lösung nach Reynolds (REYNOLDS 1963) erreicht.

Die Auswertung der Präparate erfolgte am Transmissionselektronenmikroskop (Zeiss Leo EM 902 A, Fa. Zeiss, Oberkochen) bei einer Beschleunigungsspannung von 80 kV.

6.5 Rezeptteil

6.5.1 Aqua dest.

Bei Aqua dest handelt es sich um unsteriles, zweifach über Ionenaustauscher desmineralisiertes, filtriertes Wasser. Die Aufarbeitung erfolgte in einer Mili-RX-20-Anlage (Fa. Milipore, Bradford, USA).

6.5.2 BSA-Lösung

Bovines Serumalbumin (Fa. PAA GmbH, Pasching, Österreich) wird nach gewünschter Konzentration in TBS gelöst.

6.5.3 Epon

Herstellung von 25 g Epon:

11,56 g Epoxy-Einbettungsmittel (Epoxy-Einbettungsmittel, Fa. Sigma Aldrich, Steinheim)

7,13 g Dodecenybersteinsäureanhydrid (Epoxy-Einbettungsmittel Härter DDSA, Fa. Sigma Aldrich, Steinheim)

6,28 g Methylnadac anhydrid (Epoxy-Einbettungsmittel Härter MNA, Fa. Sigma Aldrich, Steinheim)

0,38 g Dimethylaminophenol (Epoxy-Einbettungsmittel Beschleuniger DMP-30, Fa. Sigma Aldrich, Steinheim)

Die Aushärtung erfolgte bei 60°C für 48 Stunden im Wärmeschrank.

6.5.4 Glutardialdehyd 2%

10 ml 1M Cacodylatpuffer

80 ml Aqua dest.

8 ml Glutardialdehyd

0,2 ml Pikrinsäure

Die Substanzen werden gemischt und mit Aqua dest. auf 100ml Flüssigkeitsvolumen gebracht, der pH auf 7,35 eingestellt.

6.5.5 Goldner – Lösung 2

0,2 g Chromotrop RR (Fa. Merck, Darmstadt)

0,1 g Säurefuchsin (Carl Roth GmbH, Karlsruhe)

300 ml Essigsäure 2% (Carl Roth GmbH, Karlsruhe)

6.5.6 Goldner – Lösung 3

4 g Phosphorwolframsäure (Fa. Merck, Darmstadt)

2 g Orange G (Fa. Merck, Darmstadt)

100 ml Aqua dest.

6.5.7 Goldner – Lösung 4

0,1 g Lichtgrün (Sigma Aldrich Chemie GmbH, Steinheim)
100 ml Essigsäure 0,2% (Carl Roth GmbH, Karlsruhe)

6.5.8 Inkubationslösung des NADPH-Diaphorase-Stainings

83,34 mg β -NADPH (Biomol, Hamburg)
40,88 mg Nitroblue Tetrazolium (Biomol, Hamburg)
0,1% Triton X 100 (Serva Electrophoresis GmbH, Heidelberg)

Die Substanzen wurden in 0,05 molarer, TRIS-gepufferter Lösung mit pH 8,0, gelöst.

6.5.9 Mayers Hämalun

1 g Hämatoxylin wurde in 1 Liter Aqua dest. gelöst. Es wurden 200 mg Natriumjodat und 50g Kalialun zugegeben und unter Schütteln gelöst. Dieser Lösung wurden 50 g Chloralhydrat und 1g Zitronensäure zugefügt.

6.5.10 Methylenblau-Azur II

Die von RICHARDSON et al. (1960) entwickelte Färbung enthält 1% Methylenblau in 1%iger wässriger Boraxlösung und 1% Azur II (eine Mischung aus Methylenblau und Methylenazur) in Aqua dest. im gleichen Mengenverhältnis.

6.5.11 Osmiumtetroxid-Lösung

Das Tetroxid von Osmium ist hochgiftig, liegt in kristalliner Form vor und ist bei Raumtemperatur flüchtig. Da es unter Lichteinfluß reduziert wird, wird es in einem dunklen Gefäß gelagert. Eine vierprozentige Stammlösung, die über Monate stabil bleibt, wird hergestellt, indem eine dunkle Glasphiole, die ein Gramm Osmiumtetroxid enthält, in einem lichtundurchlässigen Glasgefäß zerschlagen wird. Dann werden 25 ml Aqua dest. hinzugegeben. Das Glasgefäß wird in einem eigenen Kühlgerät aufbewahrt.

Osmiumtetroxid dient in der Elektronenmikroskopie zur Kontrastierung der Strukturen durch Einlagerung von Osmium.

Herstellung von Osmiumtetroxid-Lösung zur Blockkontrastierung:

Die vierprozentige wässrige Stammlösung wurde im Volumenverhältnis 1:1 mit 0,2 M Cacodylat-Puffer versetzt.

6.5.12 Paraformaldehyd-Lösung (PFA) 4%ig

Paraformaldehyd ist ein getrocknetes Polymerisat von Polyoxymethylenen, polymerisierten Formaldehyd-Ketten. Es wird in der Histologie für die Herstellung säure- und methanolfreie Fixanzen verwendet.

Herstellung von 4%iger Paraformaldehyd-Lösung für die Lichtmikroskopie:

Paraformaldehyd (Fa. Merck, Darmstadt) wurde 4%ig in Aqua dest. gelöst und unter ständigem Rühren für ca 10 Minuten auf eine Temperatur von 60 °C erhitzt. 1-molare NaOH-Lsg. wurde bis zur Klärung der Lösung hinzugefügt. Durch Mischung der PFA-Lösung mit PBS 0,2 M im Verhältnis 1:1 wurde die Gebrauchslösung hergestellt und der pH-Wert auf 7,4 eingestellt.

6.5.13 phosphatgepufferte Salzlösung (PBS) pH 7,4

Der Puffer wurde in einer 0,2 M Stammlösung hergestellt, die bei 4 °C aufbewahrt wurde. Zur jeweiligen Verwendung wurde die Stammlösung mit Aqua dest. auf 0,1 M verdünnt und anschließend der pH überprüft.

Herstellung der Stammlösung (0,2 M):

28,8 g Di-Natriumhydrogenphosphat-Dihydrat (Fa. Merck, Darmstadt)

5,2 g Natrium-dihydrogenphosphat-Monohydrat (Fa. Merck, Darmstadt)

17,53 g Natriumchlorid (Fa. Merck, Darmstadt)

Ad 1000 ml Aqua dest.

Der pH wurde auf 7,4 eingestellt

6.5.14 Perjodsäurelösung

1 g Perjodsäure (Fa. Merck, Darmstadt) wurden in 100 ml Aqua dest. gelöst.

6.5.15 Pikrinsäure

Pikrinsäure (Trinitrophenol) wird häufig in histologischen Fixanzen angewandt, sie fällt Eiweiß und wirkt schwach entkalkend.

Herstellung einer gesättigten wässrigen Stammlösung:

Unter einem Abzug wurden 3 g Pikrinsäure (Fa. Merck, Darmstadt) ein Liter siedendes Aqua dest. zugegeben.

6.5.16 Succroslösung

30 g D(+) - Saccharose (Carl Roth GmbH, Karlsruhe) wurden in 100 ml Aqua dest. gelöst.

6.5.17 Sulfitwasser

1,8 g Natrium-Disulfid (Fa. Merck, Darmstadt)

318 ml Aqua dest.

15 ml N HCl (Fa. Merck, Darmstadt)

6.5.18 TRIS-gepufferte Lösung

1,2114 g Trishydroxymethylaminomethan (Fa. Merck, Darmstadt)

1,7532 g Natriumchlorid (Fa. Merck, Darmstadt)

Die Substanzen wurden in 150 ml Aqua dest. gelöst und der pH- Wert wurde mit 1 N HCl auf 8,0 eingestellt. Die Lösung wurde mit Aqua dest. auf 200 ml aufgefüllt.

7 Ergebnisse

7.1 Makroskopische Befunde und spezielle Histologie und Histochemie des Verdauungstraktes

Wie bei allen Schlangen erstreckt sich der Verdauungstrakt von *Thamnophis sirtalis sirtalis* schlauchartig von der Maulhöhle bis zur Kloakenöffnung.

Der Übergang vom Ösophagus zum Magen ist durch die deutlich sichtbare Erweiterung des sack- oder spindelförmigen Magens sichtbar, der sich im mittleren Drittel des Körpers befindet. Eine distal dieser Erweiterung gelegene Einziehung des Pylorus markiert den Übergang zum Dünndarm. Einzelne Dünndarmabschnitte sind nicht differenzierbar. Der Übergang zum Dickdarm ist durch eine angedeutete Aussackung des Darmrohres, die bei anderen Schlangenarten als deutlicher Blinddarm ausgeprägt ist, zu erkennen.

Der histologische Aufbau des Magen-Darm-Traktes von *Thamnophis sirtalis sirtalis* entspricht generell dem der Säuger mit Tunica mucosa (mit Lamina epithelialis mucosae, Lamina propria mucosae und Lamina muscularis mucosae), Tela submucosa, Tunica muscularis (mit stratum circulare und stratum longitudinale) und Tunica serosa bzw. Tunica muscularis.

7.1.1 Ösophagus

Der Ösophagus verläuft bis zum Eintritt in den Magen in Höhe der Körpermitte und des kaudalen Leberendes gerade und ungewunden. Er liegt kranial des Herzens dorsal der Trachea und verläuft kaudal des Herzens an der linken Körperwand.

Die histologische Schichtung des Ösophagus von *Thamnophis sirtalis sirtalis* entspricht der beim Säugetier (Abb.4).

Die Ösophagusschleimhaut liegt in Längsfalten, die sich stark in das Lumen vorwölben.

In den untersuchten Präparaten stellt sich das Epithelium mucosae als mehrreihiges hochprismatisches Epithel dar. Es wird von zwei Zelltypen, Becherzellen und zilienträgende Epithelzellen, gebildet, die einer gefalteten Basallamina aufsitzen. Die hohe Anzahl der Becherzellen in der gesamten Länge des Ösophagus lässt das Epithel lichtmikroskopisch wabig-schwammig erscheinen. Durch die räumliche Verdrängung sind die Kerne der Epithelzellen sowohl basal, als auch zentralständig und apikal angeordnet.

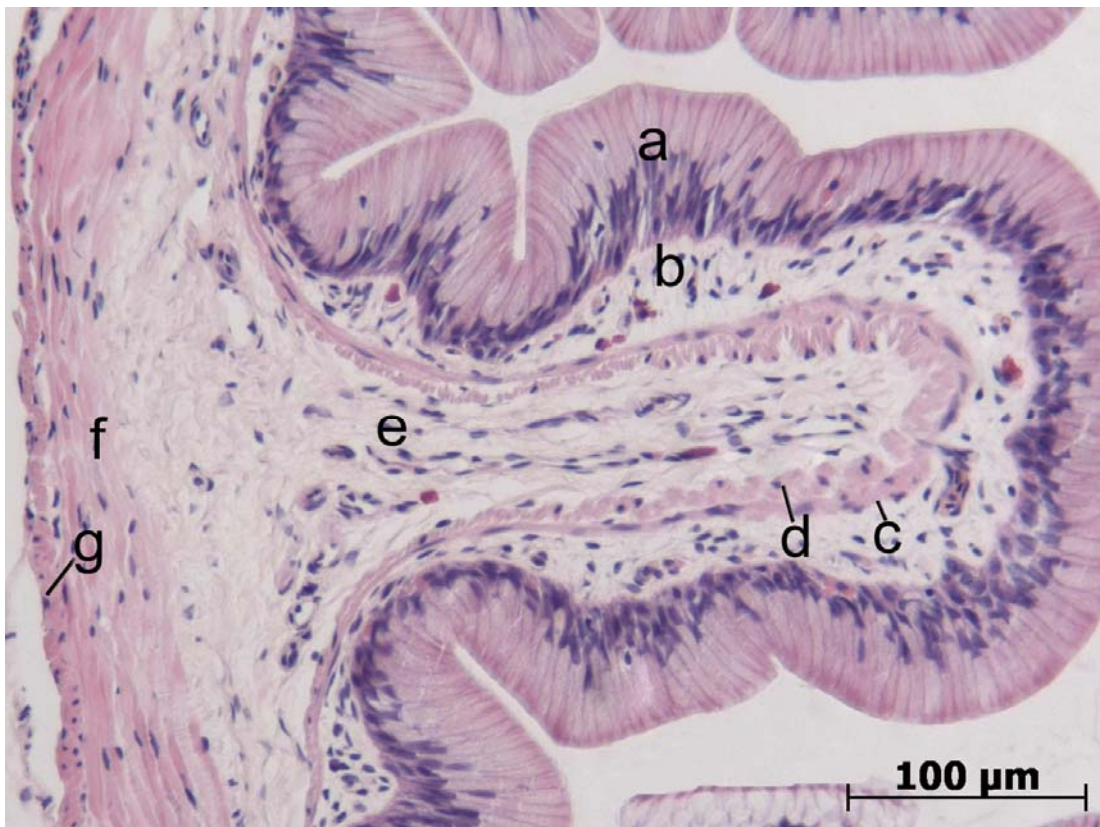


Abb.4 Histologische Schichtung des Ösophagus, H.E.

a: Lamina epithelialis mucosae, b: Lamina propria mucosae, c: Lamina muscularis mucosae, innere Radiärmuskelschicht, d: Lamina muscularis mucosae, äußere Längsmuskelschicht, e: Tela submucosa, f: Tunica muscularis, innere Radiärmuskelschicht, g: Tunica muscularis, äußere Längsmuskelschicht

Unter lichtmikroskopischer Untersuchung finden sich individuell unterschiedlich zwei Epitheltypen. In einem vorgefundenen Epitheltyp sind die Becherzellen dick und birnenförmig und verdrängen die Epithelzellen, die nur vereinzelt deutlich erkennbar sind (Abb.5). Im zweiten Epitheltyp sind sie schlank, oval-länglich und dicht beieinander stehend, so dass auch hier die zilientragenden Epithelzellen nur vereinzelt deutlich erkennbar sind (Abb.6).

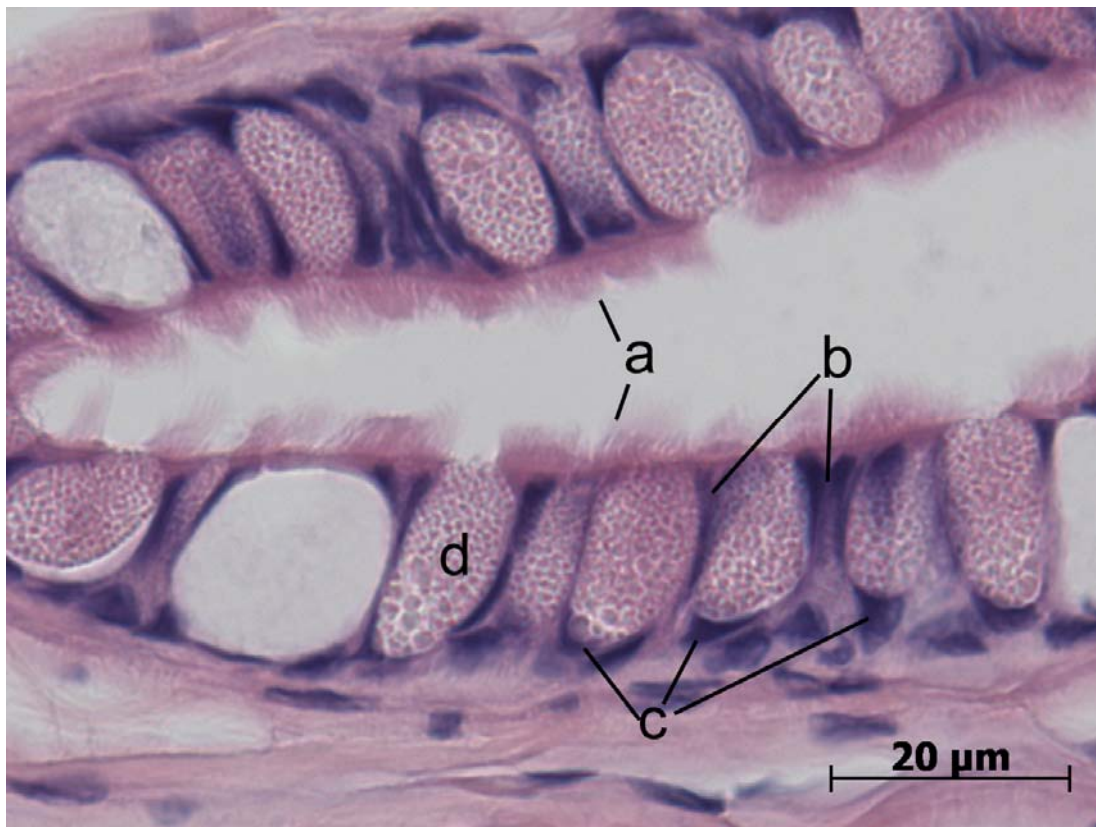


Abb.5 Ösophagus – Epitheltyp 1, H.E.

a: Zilienbesatz der Epithelzellen, b: Kerne der Epithelzellen, c: Kerne der Becherzellen, d: runde, dicke Becherzellen

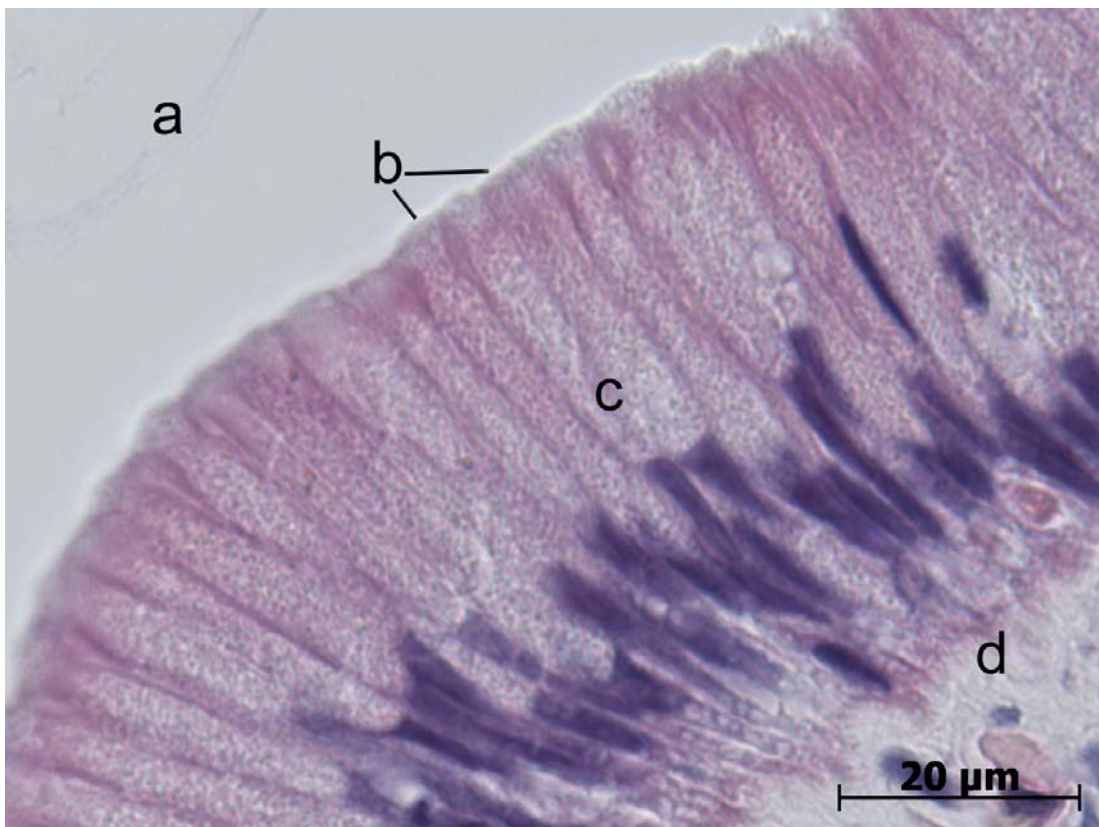


Abb.6 Ösophagus – Epitheltyp 2, H.E.

a: Lumen, b: Zilienbesatz der Epithelzellen, c: Lamina epithelialis mit hohen, schlanken Becherzellen, d: Lamina propria mucosae

Generell steigt die Becherzellanzahl im Organverlauf von kranial nach kaudal (Abb.7).

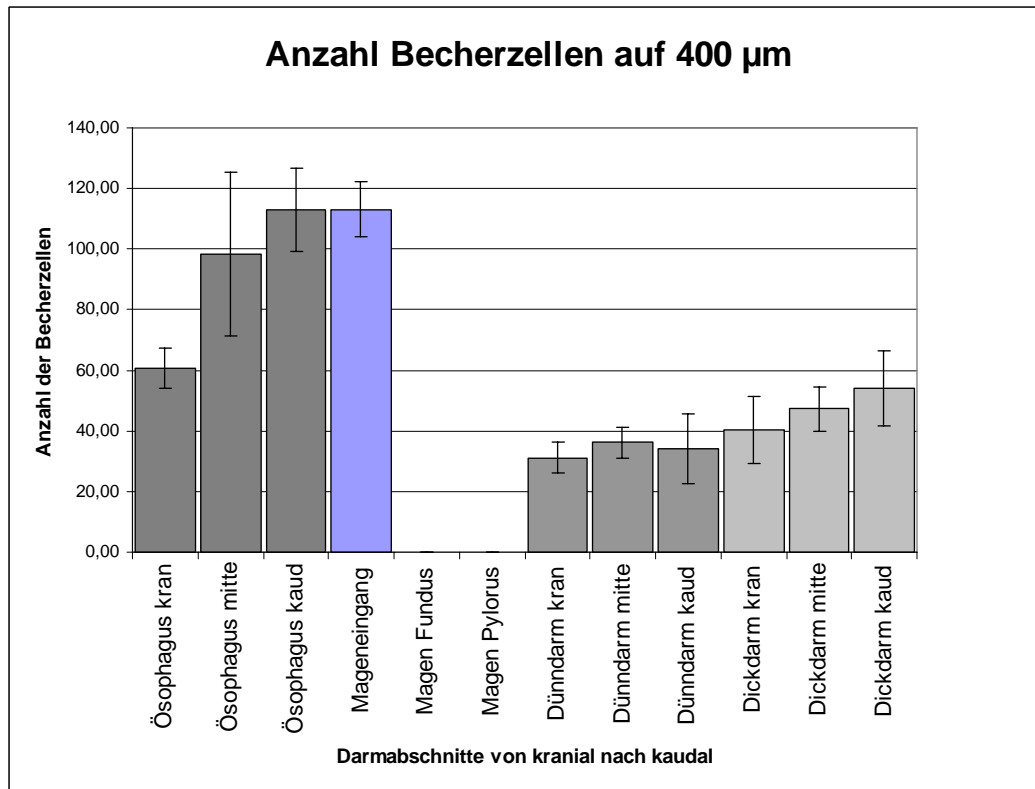


Abb 7: Anzahl der Becherzellen auf einer Lumenlänge von 400 µm

siehe auch Anhang Tabelle 3

Die Becherzellen haben die gleiche Höhe wie die ihnen benachbarten Epithelzellen. Sie stellen sich elektronenmikroskopisch, wie bereits beschrieben, birnenförmig oder schlank, oval-länglich, dar. Der lumenale Abschnitt der Zelle ist mit Sekretgranula gefüllt, die durch feine Membranen getrennt sind und bei einzelnen Individuen verschiedene Reifungsstadien zeigen. So sind einige Zellen mit dicht gepackten, farblich nahezu homogenen, hellen Sekretvesikeln mit deutlichen Membranen gefüllt; andere Becherzellen dagegen mit elektronendichteren, dunkleren Vesikeln, deren Membranen kaum sichtbar sind. (Abb.8).

Unter der Färbung mit Alzianblau-PAS stellen sich die Becherzellen des Ösophagus bei allen untersuchten Tieren mit einer dunkelblau-lila Färbung dar (Abb.9), ausschließlich Alzianblau-positive bzw. PAS-positive Becherzellen sind vereinzelt zu finden. Die Becherzellen enthalten somit neutrale als auch saure Mukopolysaccharide.

Elektronenmikroskopisch betrachtet haben die Epithelzellen die gleiche Höhe wie die Becherzellen und sind an ihrer luminalen Seite mit Zilien besetzt, die Basalkörperchen aufsitzen, dazwischen vereinzelt Mikrovilli. Zellkontakte sowohl zwischen den Epithel- als auch zwischen Epithel- und Becherzellen sind als tight junctions und Zonulae und Maculae

adhaerentes sichtbar (Abb.10), wobei die Zellkontakte zwischen Becher- und Epithelzelle nur im basalen Anteil liegen, die zwischen den Epithelzellen verlaufen über den gesamten Zellkontakt. Die Zellkerne der Epithelzellen sind größer als die der Becherzellen und länglich in der Form. In den Bereichen der Kernmembranen sind sie stark elektronendichter und kontrastreicher als die Kerne der Becherzellen, oft werden zwei Nucleoli vorgefunden. Die Kerne sind basal angeordnet, bei räumlicher Verdrängung der Epithelzellen durch die Becherzellen befinden sich die Kerne der Epithelzellen auch zentral und apikal. Im Zytoplasma können elektronenmikroskopisch Mitochondrien und vereinzelt Lipidtröpfchen vorgefunden werden.

Der ovoide bis becherförmige Zellkern der Becherzellen ist im basalen Drittel situiert, er ist in der Form kompakter als der der Epithelzellen. Das Nucleoplasma ist elektronenmikroskopisch randständig elektronendichter als der zentrale Bereich, ein Nucleolus ist deutlich sichtbar. Endoplasmatisches Reticulum ist vorwiegend zwischen Sekretgranula und Kern vorzufinden, so auch Golgi-Apparate.

Die basal zwischen den Zellen des Epithels liegenden Basalzellen besitzen einen ovalen Zellkern, der sich ebenso wie der der Epithelzellen im lichtmikroskopischen Bild deutlich anfärbt. Die Lamina propria mucosae aus elastischen und kollagenen Fasern zieht sich bis weit in die Schleimhautfalten hinein. Hier befinden sich Kapillaren und vereinzelt Lymphozyten. Die Lamina muscularis mucosae ist in allen Ösophagusabschnitten dünn und zieht sich bis weit in die Spitze der Ösophagusfalten. Sie besteht aus einer inneren Zirkulär- und einer äußeren Längsmuskelschicht. Die Tela submucosa aus lockerem Bindegewebe zieht ebenfalls bis weit in die Faltenpitze, die kollagenen Fasern sind elektronenmikroskopisch betrachtet scherengitterartig angeordnet. In der Tela submucosa befinden sich Blutgefäße und vereinzelt mononukleäre Rundzellen, die unter HE-Färbung rund, dunkel und kompakt angefärbt sind. Die Tunica muscularis erscheint in allen Ösophagusabschnitten gleichstark und zweischichtig mit einer äußeren Längs- und einer inneren Zirkulärmuskelschicht. Die Serosa wird durch Plattenepithel gebildet.

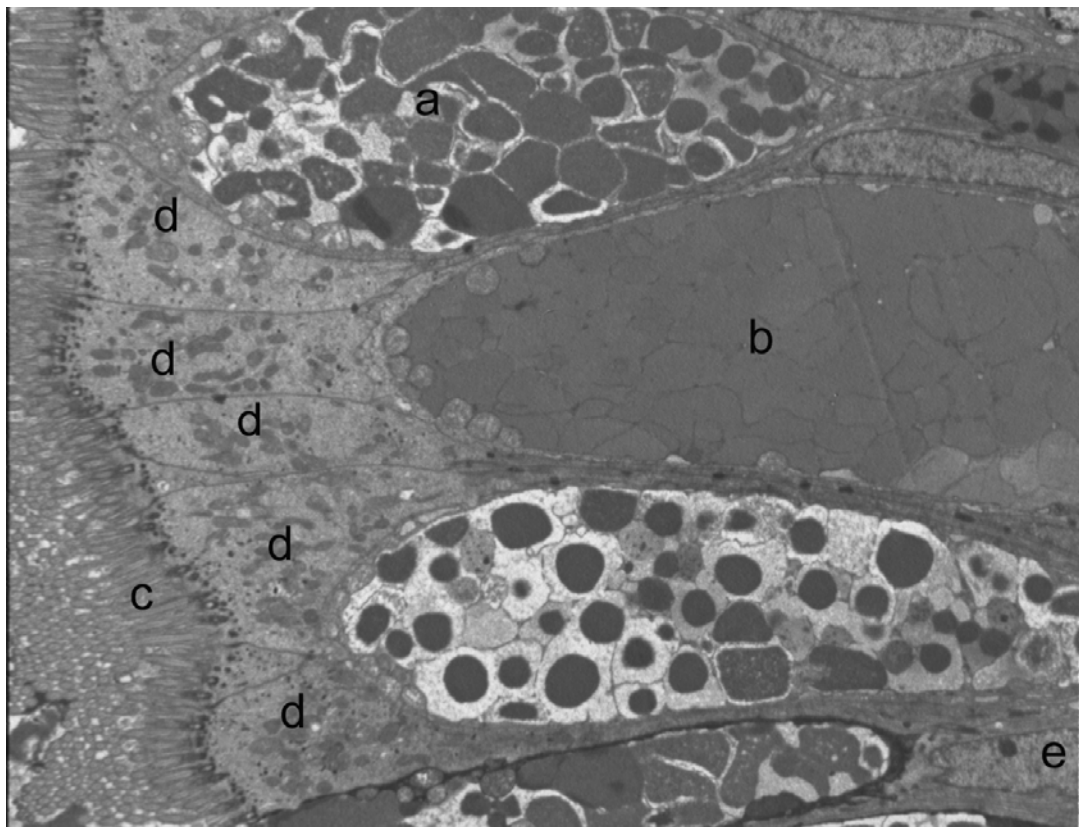


Abb.8 Epithel des Ösophagus, Elektronenmikroskopie, 3000fach
a: Becherzelle, Schleimtyp 1, b: Becherzelle, Schleimtyp 2, c: Mikrovillibesatz, d: Epithelzelle, e: Kern einer Becherzelle mit Nucleolus

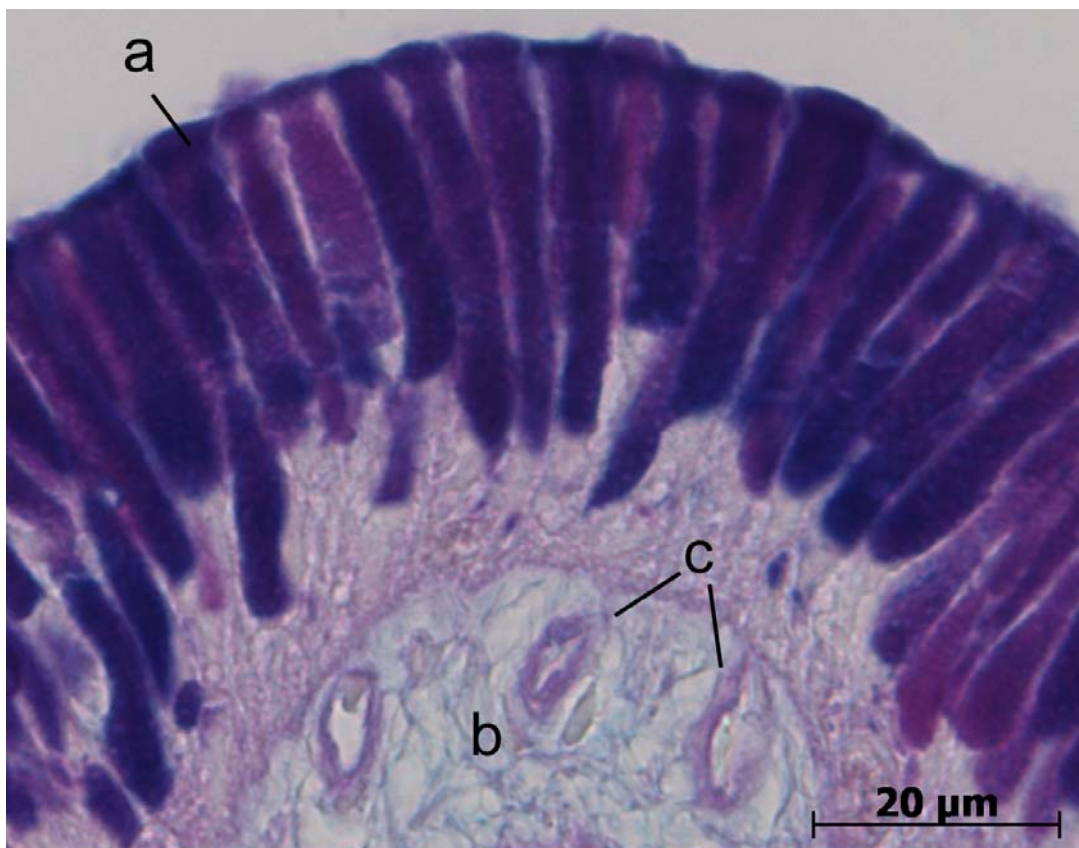


Abb.9 Ösophagusepithel, Alzianblau-PAS
a: schleimgefüllte Becherzellen, b: Lamina propria mucosae, c: Gefäße

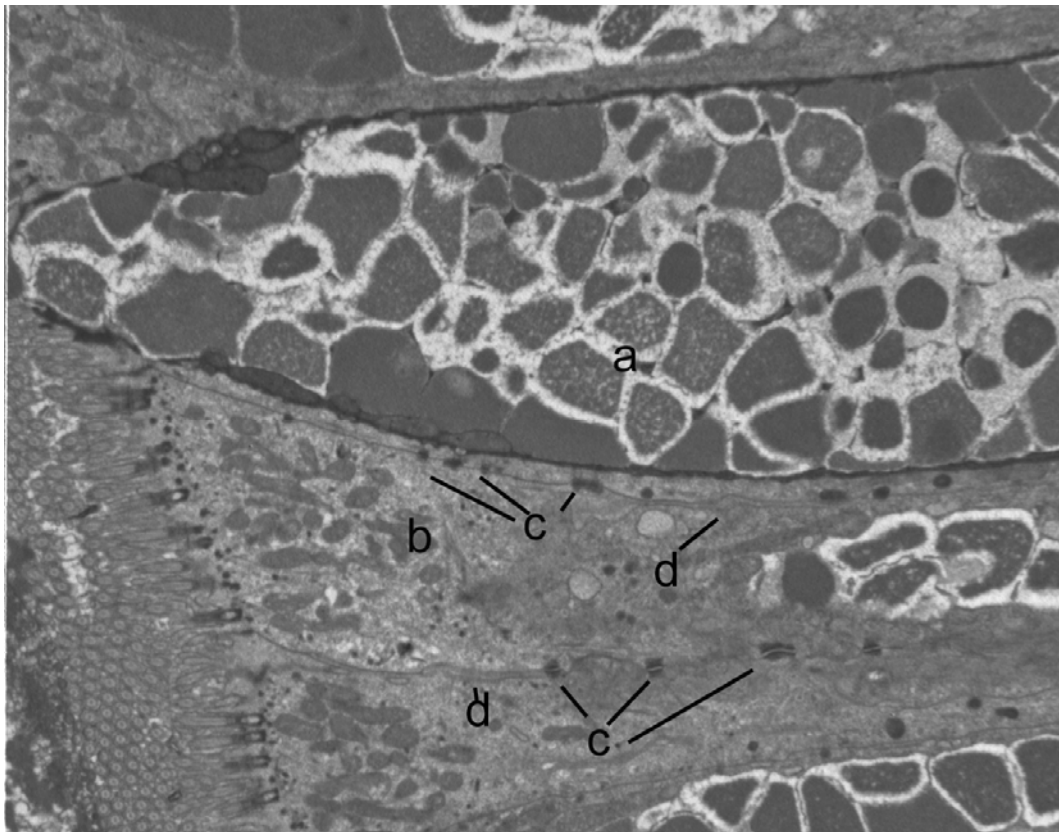


Abb.10 Epithel des Ösophagus, Elektronenmikroskopie, 4400fach
a: schleimgefüllte Becherzelle, b: Epithelzelle mit Mikrovillibesatz, c: Zell-Zell Kontakte d: Interzellularspalt

Mittels elektronenmikroskopischer Betrachtungen können kleine Ansammlungen markloser Nerven mit Ausnahme des Epithels in allen histologischen Schichten gefunden werden, in größerer Zahl vor allem in der Lamina propria mucosae sowie der Tela submucosa, dort oft nahe Gefäßen. Vereinzelt liegen ebenfalls zwischen den zwei Muskelschichten der Tunica muscularis kleine Ansammlungen markloser Nervenfasern (Abb.11).

Unter dem NADPH-Diaphorase-Staining werden NO-exprimierende Nervenfasern und –zellen mit Ausnahme des Epithels in allen histologischen Schichten nachgewiesen. Ein stark gehäuftes Vorkommen zeigt sich in der Lamina muscularis mucosae, sowie der inneren Zirkulärmuskelschicht der Tunica muscularis (Abb.12, Abb.13), während die Tela submucosa und die Lamina propria mucosae nur gering- bis mittelgradig mit positiv reagierenden Nervenfasern durchzogen ist. Präzipitatanisammlungen befinden sich etwas gehäuft und regelmäßiger in der Lamina propria mucosae, unterhalb des Epithels. Vereinzelt können sowohl unter dem NADPH-Diaphorase-Staining als auch mittels der Goldner-Färbung kleine Nervenfasersammlungen zwischen den Muskelschichten der Tunica muscularis vorgefunden werden. Ebenfalls unter dem NADPH-Diaphorase Staining positiv angefärbt sind die Endothelien der Kapillare der Lamina propria mucosae, sowie der

Gefäße der Tela submucosa und die Lymphozyten. Die Verteilung der mittels NADPH-Diaphorase nachgewiesenen Strukturen entspricht dem mittels Anti-Neurofilament-Antikörpern vorgefundenen Bild in der Immunfluoreszenz. Feine Neurofilamentstrukturen ziehen sich durch die Lamina propria mucosae, die Tela submucosa, sowie Lamina muscularis mucosae und Tunica muscularis (Abb.15). Über den letztgenannten Schichten können kleine, netzartige Verwebungen vorgefunden werden. Kleine Meissner-Plexus befinden sich vereinzelt in der Tela submucosa, sowie Auerbach-Plexus zwischen den Schichten der Tunica muscularis. Während keine NPY-Aktivität gezeigt werden kann, zeigen sich HNK-1 positive Fasern in der Lamina propria mucosae, sowie als Meissner- und Auerbach-Plexus (Abb.14). Dünne HNK-1 bindende Fasern finden sich ebenfalls über der Tunica muscularis, sowie der Lamina muscularis mucosae.

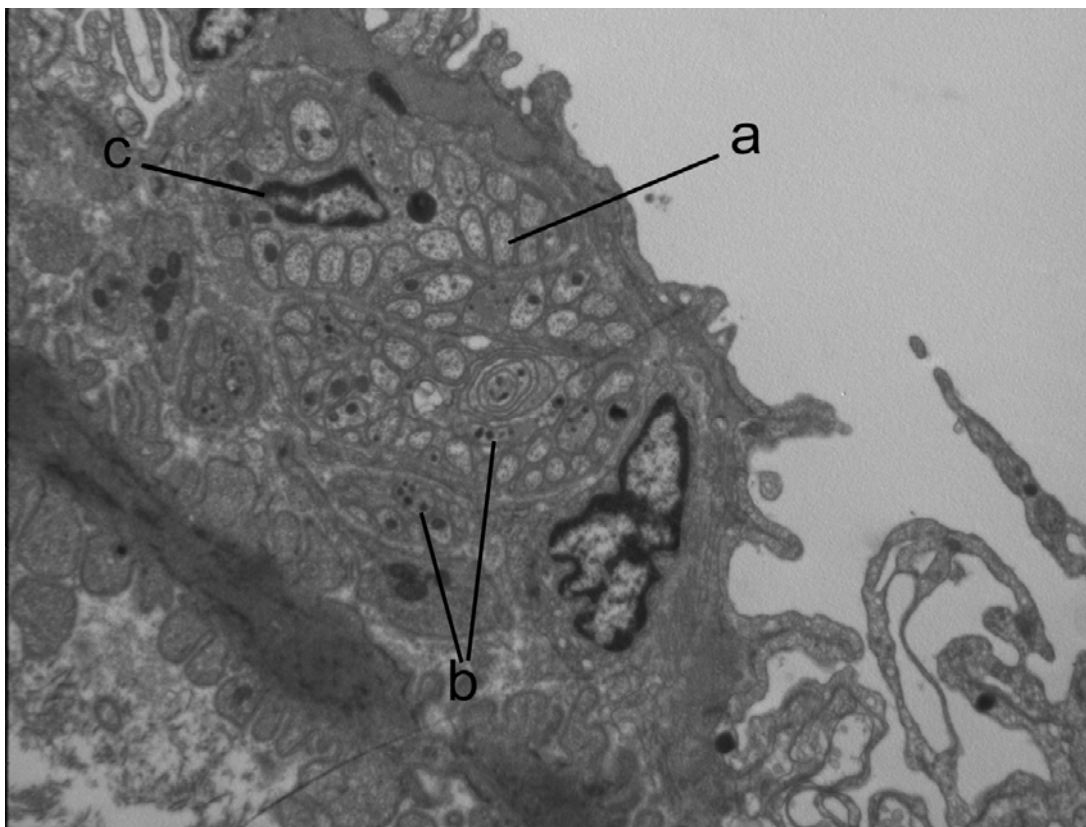


Abb.11 Nerven in Ösophagus, Elektronenmikroskopie 12000fach
Nerv in Tunica muscularis, Elektronenmikroskopie 12.000fach
a: Nervenfasern, b: dense core vesicle, c: Kern einer Schwann'schen Zelle

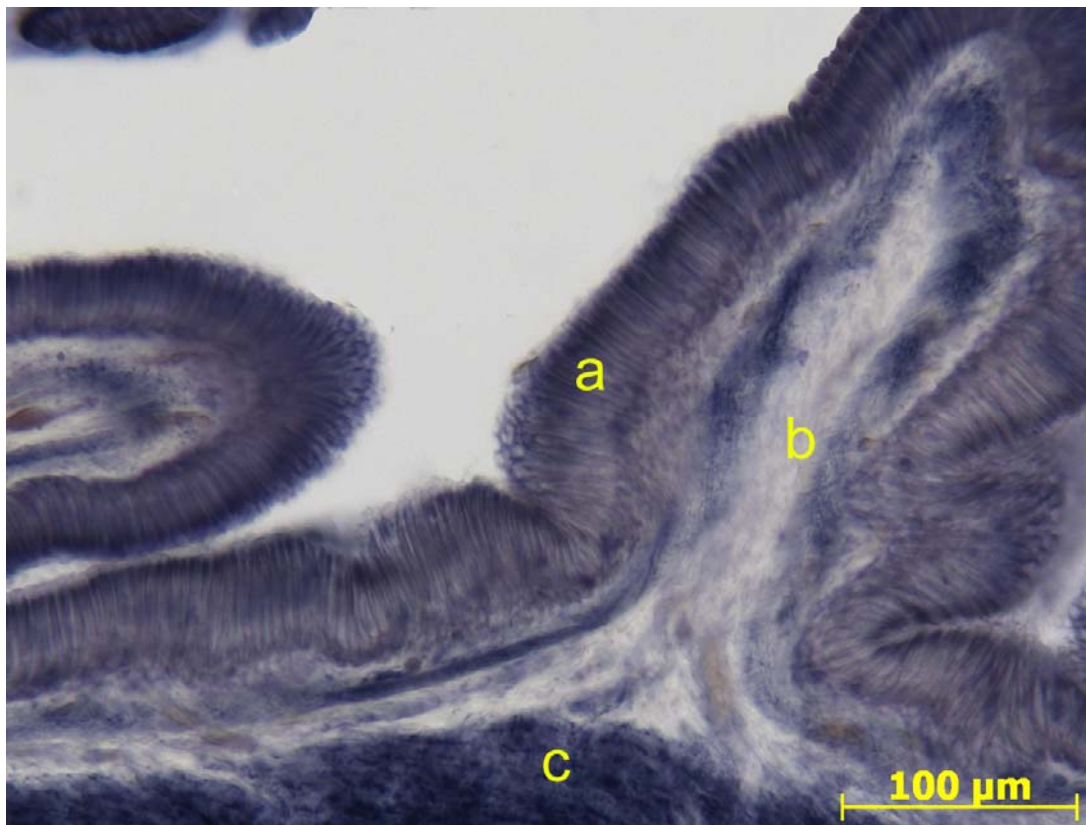


Abb.12 Ösophagus, NADPH-Diaphorase

a: Lamina epithelialis mucosae, b: Tela submucosa, c: Tunica muscularis

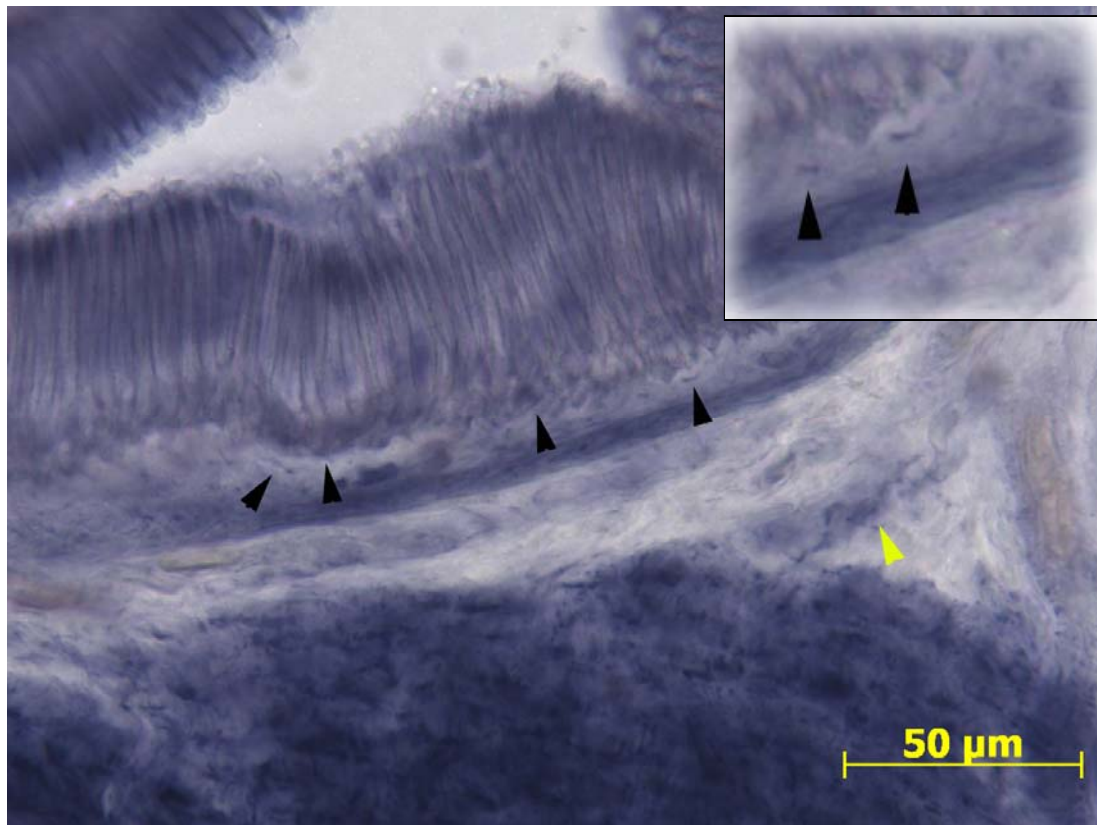


Abb.13 Ösophagus, NADPH-Diaphorase

Schwarzer Pfeil: Nervenfasern in der Lamina propria mucosae, gelber Pfeil: Nervenfasern in der Tela submucosa

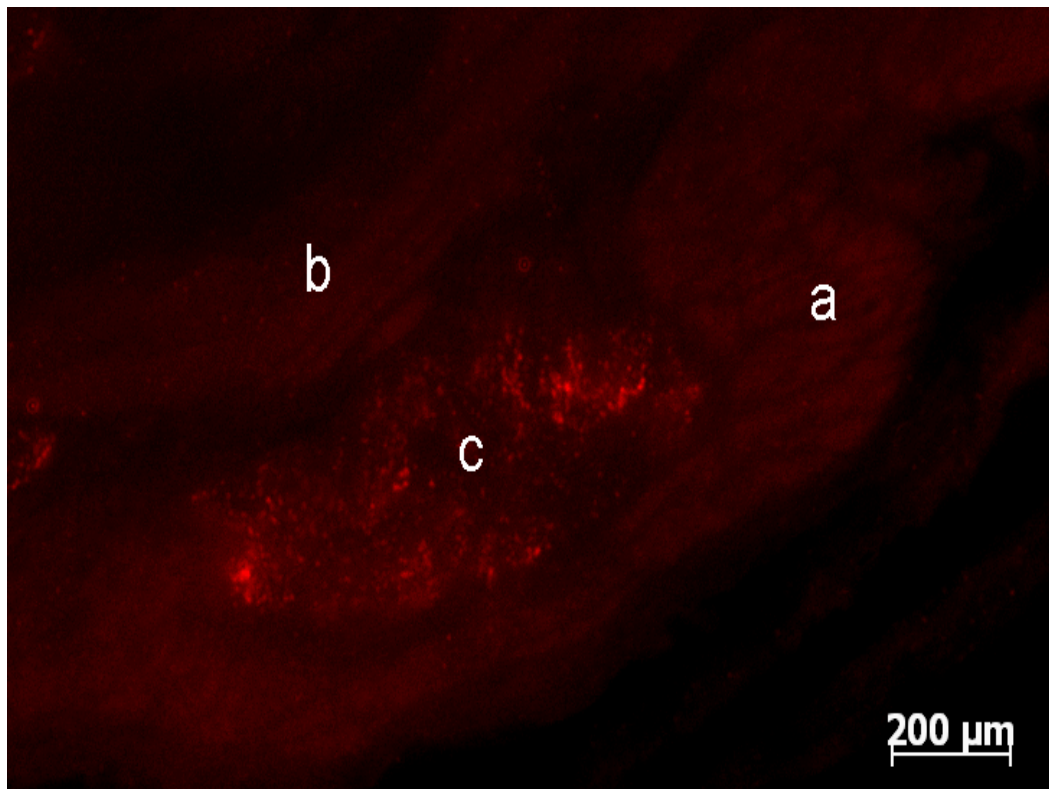


Abb.14 Ösophagus kranial HNK-1 Texasred

a: Tunica muscularis, äußere Längsmuskelschicht, b: Tunica muscularis: innere Radiärmuskelschicht, c: Auerbach-Plexus

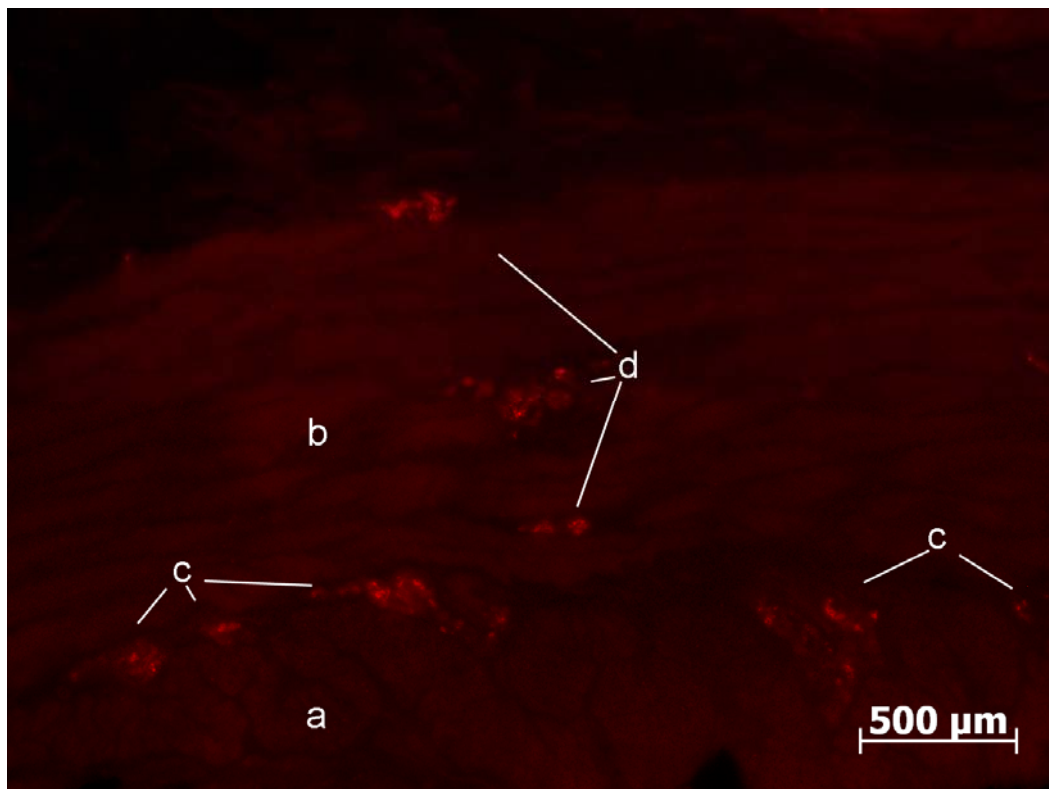


Abb.15 Ösophagus kaud NF Texasred

a: Tunica muscularis, äußere Längsmuskelschicht, b: Tunica muscularis, innere Radiärmuskelschicht, c: Auerbach-Plexus d: Meissner-Plexus

7.1.2 Magen

Der spindelförmige Magen liegt von Fettgewebe umgeben in Höhe der Körpermitte, links der Leber. Makroskopisch können die Region des Magenfundus, die gegenüber dem Ösophagus geweitet ist, und des stark abgesetzten Pylorus unterschieden werden. Vom Dünndarm setzt sich der Pylorus durch den Pylorussphinkter deutlich ab.

Die Schleimhaut des Magens liegt in Falten, wobei die Region des Mageneingangs wenige, eher flache Schleimhautfalten aufweist, die im Magen und Pylorus prominenter werden. Die histologische Schichtung des Magens entspricht der, wie sie für den Ösophagus (Abschnitt 7.11) beschrieben wurde (Abb.18).

Der Übergang des Ösophagus zum Magen (Abb. 16, 17) ist durch eine Abflachung der Schleimhautfalten gekennzeichnet, die in Anzahl und Höhe im Magen geringer werden. Vor der Region des Magenfundus befinden sich viele Becherzellen, im Magen selbst sind sie nicht mehr vorhanden. Das Fundus- und Pylorusepithel ist ein mehrreihiges Zylinderepithel mit schlanken Zellen mit langgestreckten, zigarrenförmigen Kernen; Becherzellen sind nicht vorhanden. Zwischen den Epithelzellen befinden sich solitär heterophile Granulozyten mit leicht exzentrischem Kern und polymorpher Granula, und kleine mononukleäre Rundzellen, die unter der HE-Färbung durch ihre kompakte dunkle Anfärbung hervorstechen. Die Epithelzellen zeigen unter der Alzianblau-PAS-Färbung einen basalen und einen apikalen Pol, der basale Pol ist ungefärbt, der apikale Zellanteil zeigt eine dunkelblau-lila Färbung. Elektronenmikroskopisch wird im apikalen Zellbereich elektronendichte Granula vorgefunden, Zellorganellen befinden sich im basalen Zellabschnitt. Die Kernmembran ist auch hier elektronendichter als das Karyoplasma, es sind bis zu zwei Nucleoli vorhanden.

Krypten sind im Magen im Gegensatz zum Säugetier nicht ausgebildet, das Epithel zieht sich zu den Ausführungsgängen der Drüsen in Fundus und Pylorus in nur kleinen Magengruben („foveolae gastricae“) fächerförmig ein. Dabei erschienen die Kerne der zuunterst und der Drüse am nächsten stehenden, eher kubischen Epithelzellen oval-rundlich, während sich die Kerne der gedrängt-fächerförmigen Epithelzellen hingegen oval-länglich darstellen.



Abb.16 Übergang Ösophagus-Magen, H.E.

a: Lumen, b: Magen mit Magendrüssen in Lamina propria, c: Ösophagus



Abb.17 Übergang Ösophagus – Magen, Alzianblau-PAS

a: Lumen, b: Magen mit Magendrüssen in Lamina propria, c: Ösophagus

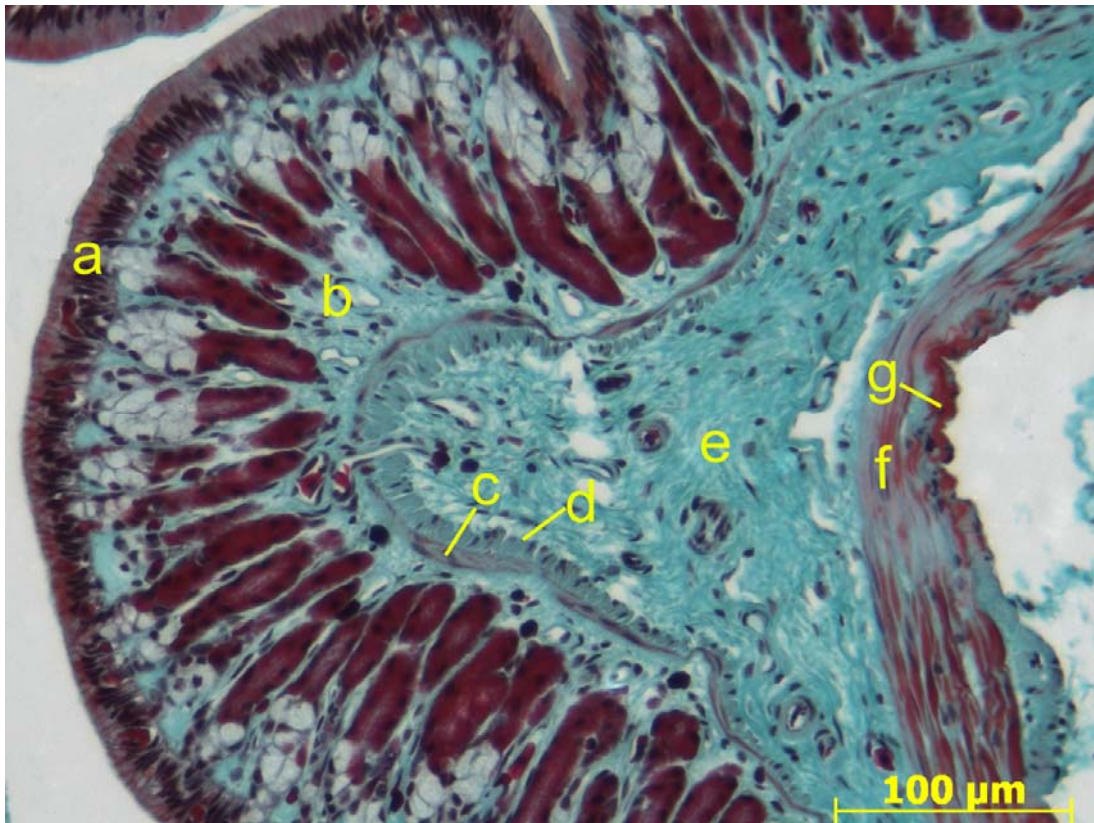


Abb.18 Histologische Schichtung Magenfundus, Goldner

a: Epithel, b: Lamina propria mit Magendrüsen, c: Lamina muscularis mucosae, innere Radiärmuskelschicht, d: Lamina muscularis mucosae, äußere Längsmuskelschicht, e: Tela submucosa, f: Tunica muscularis, innere Radiärmuskelschicht, g: Tunica muscularis, äußere Längsmuskelschicht

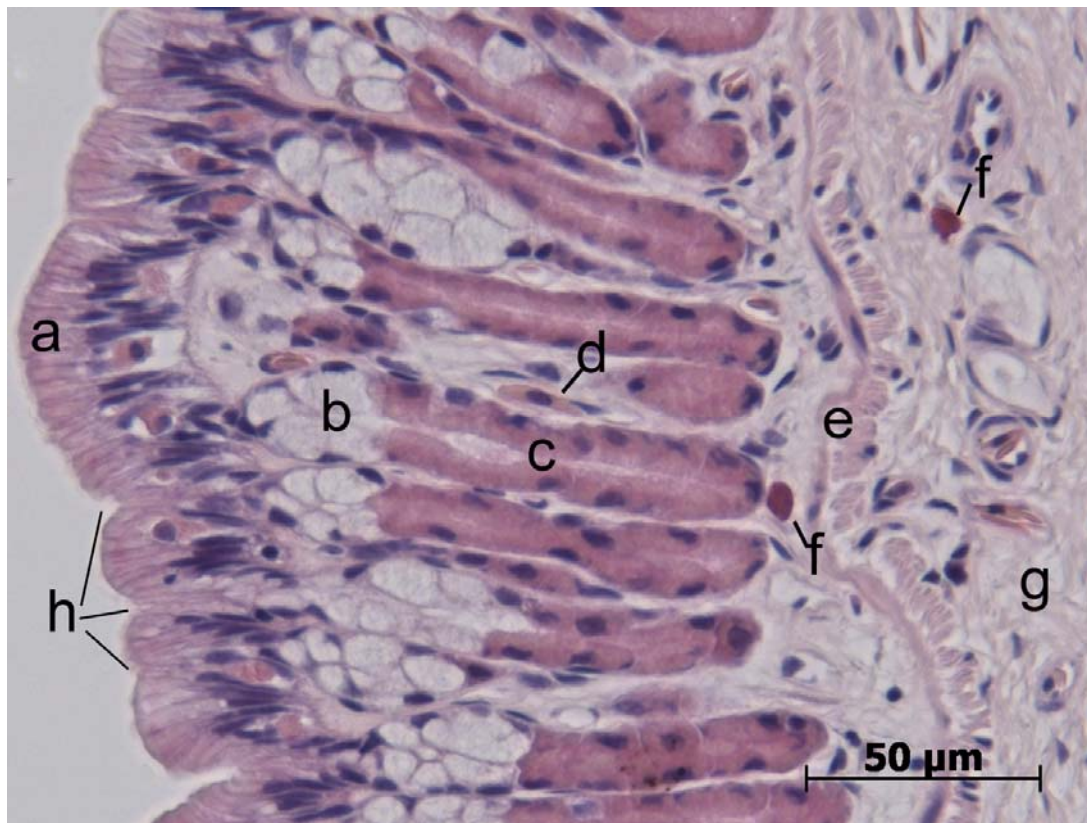


Abb.19 Drüsen Magenfundus, H.E.

a: Epithel, b: Drüsenhalszellen, c: Drüsenkörper, d: Kapillare mit Erythrozyt, e: Lamina muscularis mucosae, f: heterophiler Granulozyt, g: Tela submucosa, h: angedeutete foveolae gastricae

Das unvermittelte Auftreten von dicht liegenden, tubulären Drüsen in der Lamina propria mucosae markiert histologisch den Übergang zum Magenfundus (Abb.16, Abb.17). Die Magendrüsen sind im histologischen Querschnitt über die gesamte Länge der Lamina propria mucosae vom Epithel bis zur Lamina muscularis mucosae ausgedehnt (Abb.19). Sie bilden einen epithelnahen Drüsenhals und einen schlauchartigen Drüsenkörper, der bis zur Lamina muscularis mucosae zieht. Zwischen den Drüsen ziehen sich astartige Bindegewebsstränge bis zum Epithel.

Die Zellen des tubulären Drüsenkörpers (Abb.20-23) besitzen große, rund-ovale, basal angeordnete Kerne, die sich elektronenmikroskopisch membranständig als stark elektronendicht darstellen. Elektronenmikroskopisch betrachtet zeigt sich ein luminaler Besatz mit Mikrovilli, tight junctions und Desmosomen in unregelmäßigen Abständen als Zell-Zell-Kontakte, und eine oft gefaltete basale Zellmembran. Im apikalen Zellbereich befinden sich Granula, Zymogengranula sowie Lysosomen und Vakuolen, basal sind Mitochondrien und Golgi-Apparate, sowie in allen Zellbereichen Ergastoplasma sichtbar (Abb. 23)

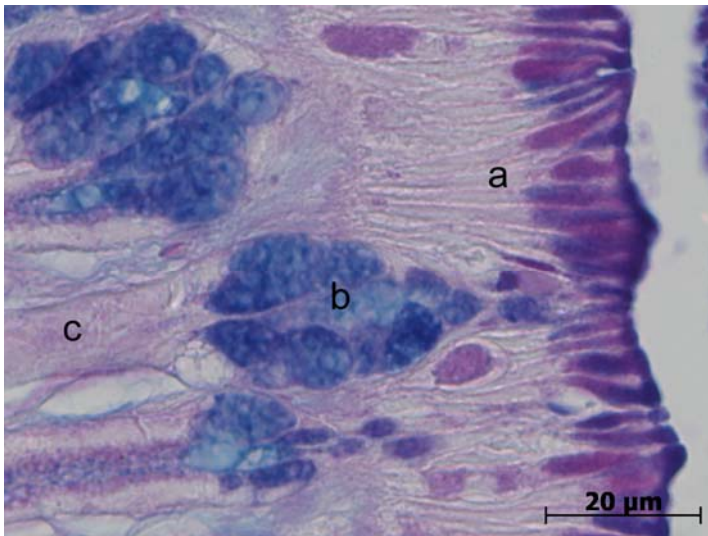


Abb.20



Abb.21

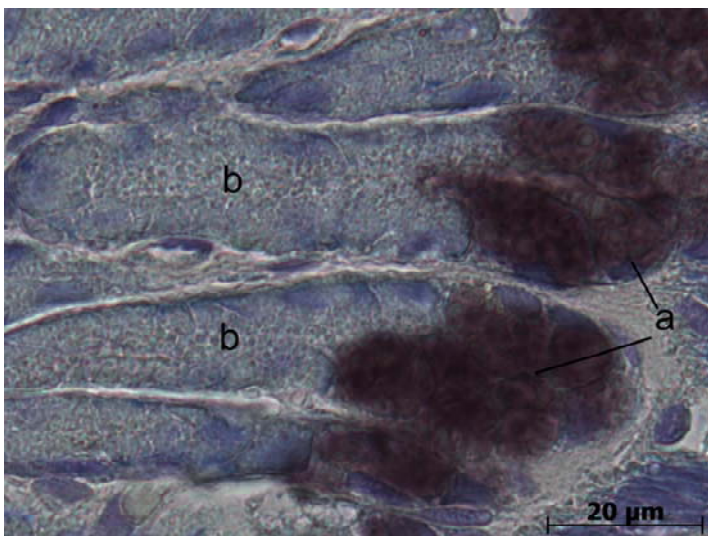


Abb.22

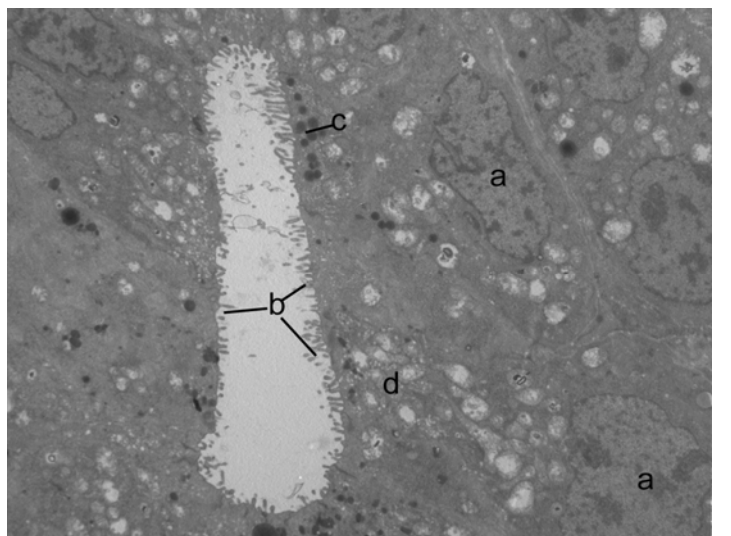


Abb.23

Abb.20

Magendrösen, Alzianblau-PAS

a: Epithelzelle, b: schleimgefüllte Drüsenhalszellen, c: Drüsenkörper

Abb.21

Magendrösen, H.E.

a: Epithelzelle, b: schleimgefüllte Drüsenhalszellen, c: Drüsenkörper

Abb.22

Magendrüse, Toluidinblau

a: schleimgefüllte Drüsenhalszellen, b: Drüsenkörper

Abb.23

Magendrösen, Querschnitt, Elektronenmikroskopie, 3000fach

a: Zellkern, b: luminaler Mikrovillibesatz, c: Granula, d: Vesikel

Diese Zellen zeigen im Querschnitt luminal eine schwache aber deutlich positive blau-lila Anfärbung unter der Alzianblau-PAS-Färbung (Abb.20). Zwischen den Drüsenschläuchen befinden sich vereinzelt Kapillaren, heterophile Granulozyten mit leicht exzentrischen Kernen und polymorpher Granula, sowie mononukleäre Rundzellen und ganz vereinzelt Mastzellen.

Die Zellen des Drüsenhalses sind unter Toluidinblau- (Abb.22) und HE-Färbung (Abb.21) ungefärbt und wabig mit basal angeordneten queroval-rundlichen Kernen. Unter Alzianblau-PAS Färbung zeigen sie eine starke Füllung mit mukösem Schleim, die sich in stark dunkelblauer Anfärbung der Zellen darstellt. Morphologisch unterscheiden sie sich nicht von den für den Fundusbereich beschriebenen Drüsenhalszellen. Zwischen den Drüsenhälsen der einzelnen Magendrüsen sind viele größere Kapillaren situiert, einzelne Kapillaren befinden sich zwischen den basalen Anteilen der Magendrüsen.

Die Lamina muscularis mucosae ist zweischichtig und stark ausgebildet mit einer inneren Längs- und einer äußeren Längsmuskelschicht. Die Tela submucosae ist ebenfalls stark ausgebildet, elektronenmikroskopisch fällt die hohe Dichte der kollagenen Fasern im Gegensatz zum lockereren Bindegewebe des Ösophagus auf. Sie ist mit vielen Gefäßen durchsetzt, die vereinzelt Erythrozyten enthalten, und vereinzelt heterophile Granulozyten und mononukleäre Rundzellen. Außerdem werden in der Tela submucosa vereinzelt Makrophagen vorgefunden.

Sehr stark ausgebildet ist die zweischichtige Tunica muscularis, die aus einer inneren Längs – und einer äußeren Längsmuskelschicht besteht.

Die histologische Schichtung der Pylorusregion entspricht der der Fundusregion. Einziger Unterschied ist hier das Fehlen der Drüsenkörperzellen, so dass lediglich schleimproduzierende Drüsenhalszellen vorhanden sind. Diese verlaufen nicht über die ganze Länge der Lamina propria, sondern sind hauptsächlich in den lumenseitigen zwei Dritteln dieser histologischen Schicht angeordnet.

Elektronenmikroskopisch liegen sowohl in der Lamina propria mucosae als auch in der Tela submucosa oft und viele Ansammlungen markloser Nervenplexus. Diese sind im Gegensatz zum Ösophagus häufiger in der Anzahl und auffallend größer, oft mit deutlichen dense core vesicles und clear vesicles. Die Auerbach-Plexus sind auffallend groß (Abb. 24), auch sie enthalten auf elektronenmikroskopischem Niveau häufig sichtbare dense core vesicles und clear vesicles (Abb. 25).

Im gesamten Verlauf des Magens reagieren die Lamina muscularis mucosae und der inneren Zirkulärmuskelschicht der Tunica muscularis, hier hervorstechend die innere Zirkulärmuskelschicht, unter dem NADPH-Diaphorase-Staining positiv. Unter dem NADPH-

Diaphorase Staining ebenfalls positiv reagierende Nervenfasern zeigen sich vereinzelt im basalen Abschnitt der Lamina propria mucosae und in der äußeren Längsmuskelschicht der Tunica muscularis, sowie vermehrt in der Tela submucosa. Das Endothel der zwischen den ungefärbten, in der Lamina propria liegenden Drüsenhälsen situierten Kapillaren reagiert ebenfalls positiv (Abb.26); dies galt auch für die Endothelzellen der in der Tela submucosae vorgefundenen Gefäße und die vereinzelt vorkommenden Mastzellen. In Umgebung der Gefäße der Tela submucosa sind vereinzelt kleine Nervenplexus zu finden, die NADPH-Diaphorase positiv sind. Eine starke Ausprägung von großen Auerbach-Plexus sieht man lichtmikroskopisch unter H.E. (Abb. 24), Goldner-Färbung und NADPH-Diaphorase (Abb.27). Mittels immunhistochemischer Untersuchungen wird sowohl in der Lamina propria mucosae, der Tela submucosa als auch stärker in der Lamina muscularis mucosae und der Tunica muscularis die Expression von Neurofilament nachgewiesen (Abb. 28). Über die ganze Ausdehnung der genannten Schichten findet sich immunhistochemisch ein Netz feiner fluoreszierender Fasern. Die Expression ist im Bereich der Meissner- und Auerbach-Plexen vergleichbar mit dem NADPH-Diaphorase Staining. Dies trifft ebenso für HNK-1 bindende Strukturen zu (Abb.29), deren Verteilung der des Neurofilaments entspricht. Eine Aktivität von NPY wird nicht nachgewiesen.

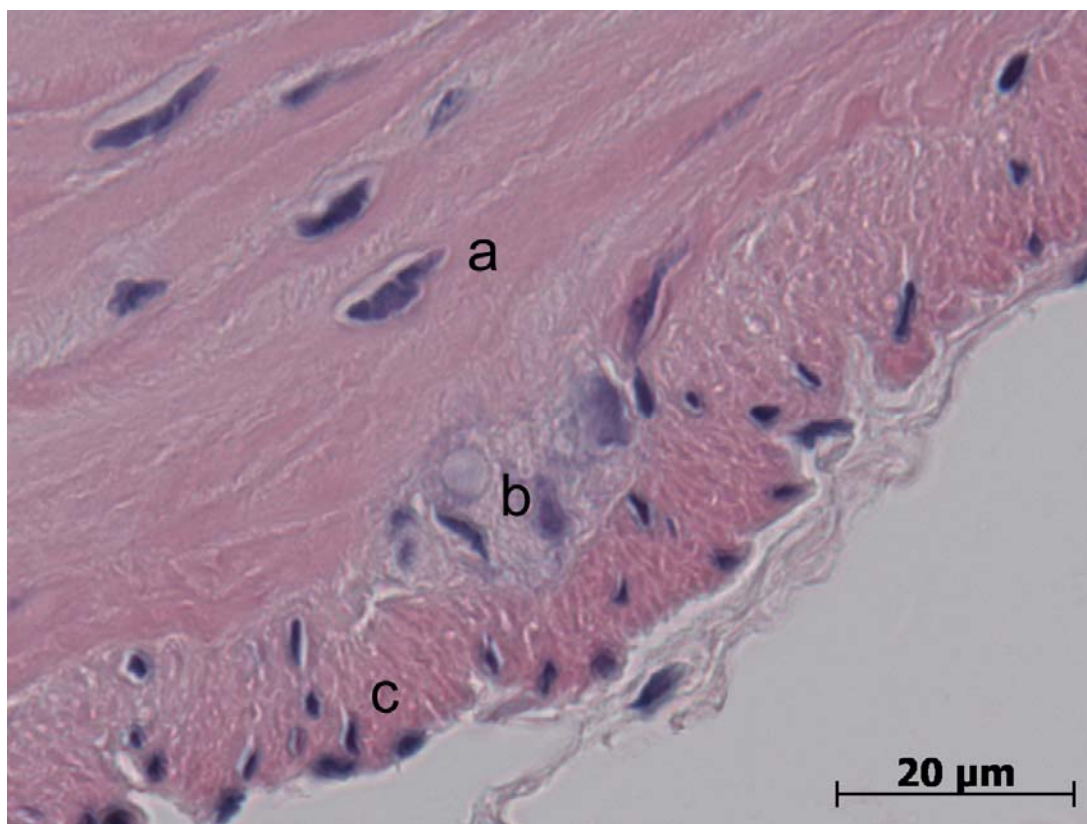


Abb.24 Auerbach-Plexus, Magen, H.E.

a: Tunica muscularis, innere Radiärmuskelschicht, b: Auerbach-Plexus
c: Tunica muscularis, äußere Längsmuskelschicht

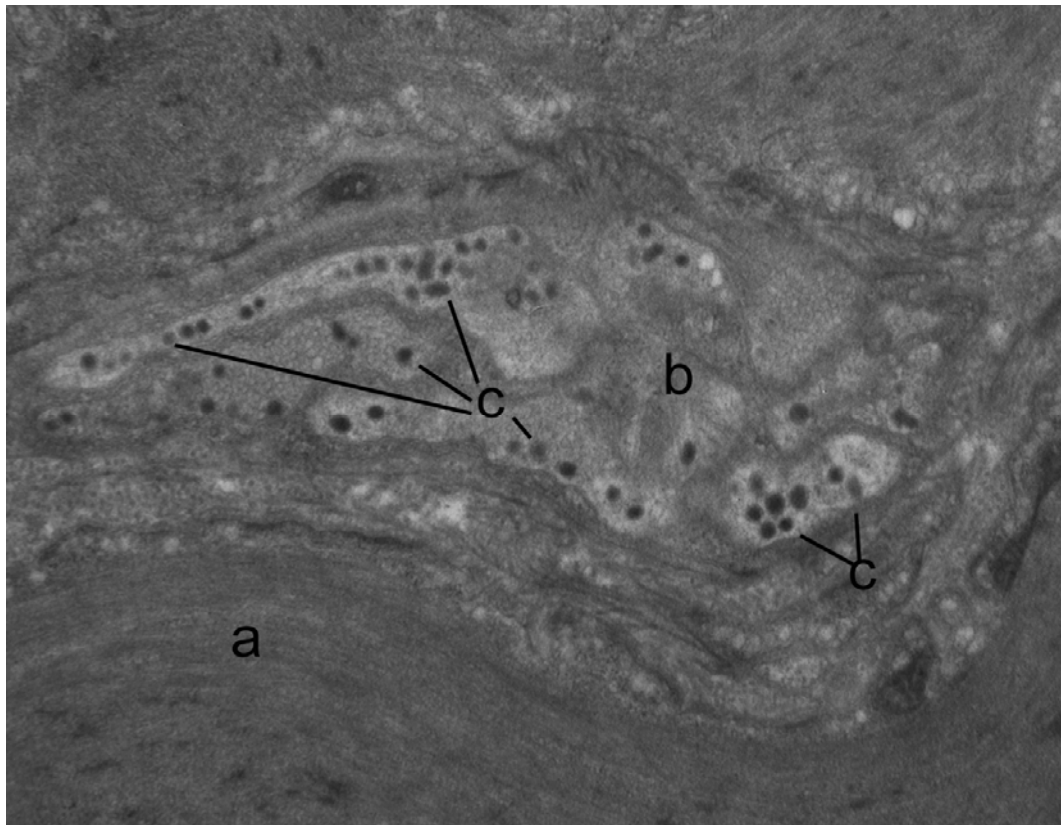


Abb.25 Auerbach-Plexus, Elektronenmikroskopie 12000fach

a: Tunica muscularis, äußere Längsmuskelschicht, b: Auerbach-Plexus, c: dense core vesicles

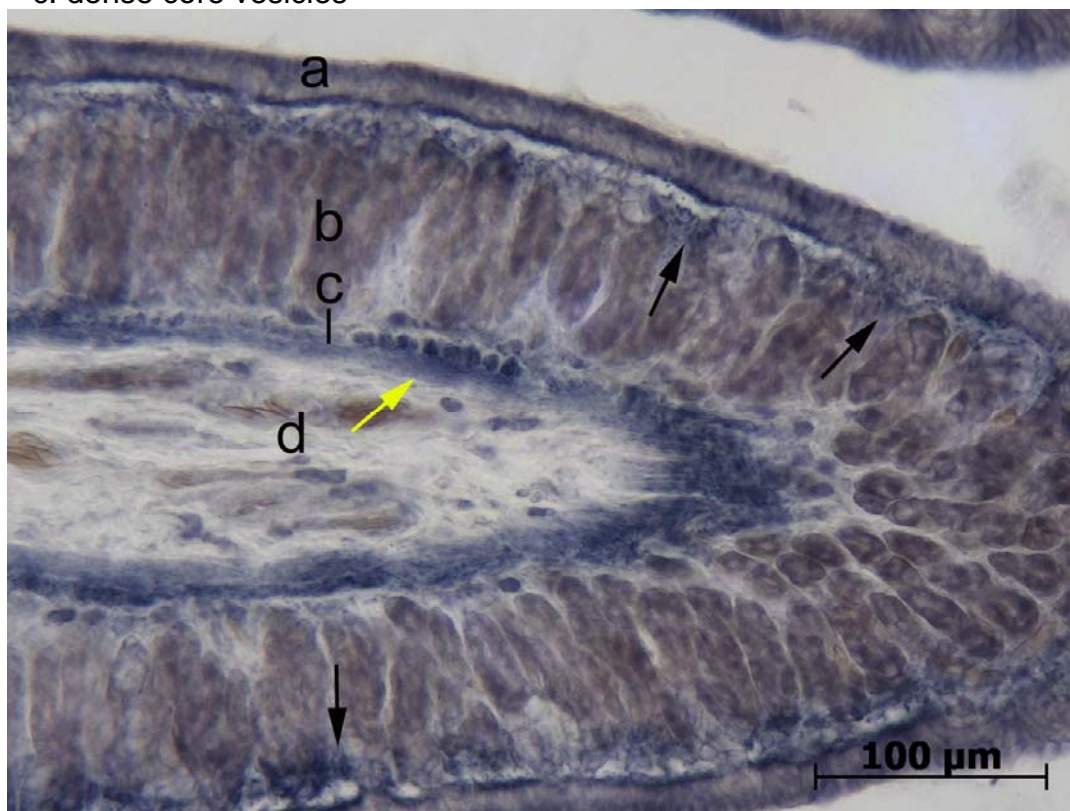


Abb.26 Magenfundus, NADPH-Diaphorase

a: Epithel, b: Magendrüsen der Lamina propria mucosae, c: Lamina muscularis mucosae, d: Tela submucosa, gelber Pfeil: Nervenfasern in der Lamina muscularis mucosae, schwarzer Pfeil: Präzipitatablagerungen über den Kapillaren zwischen den Drüsenhalszellen

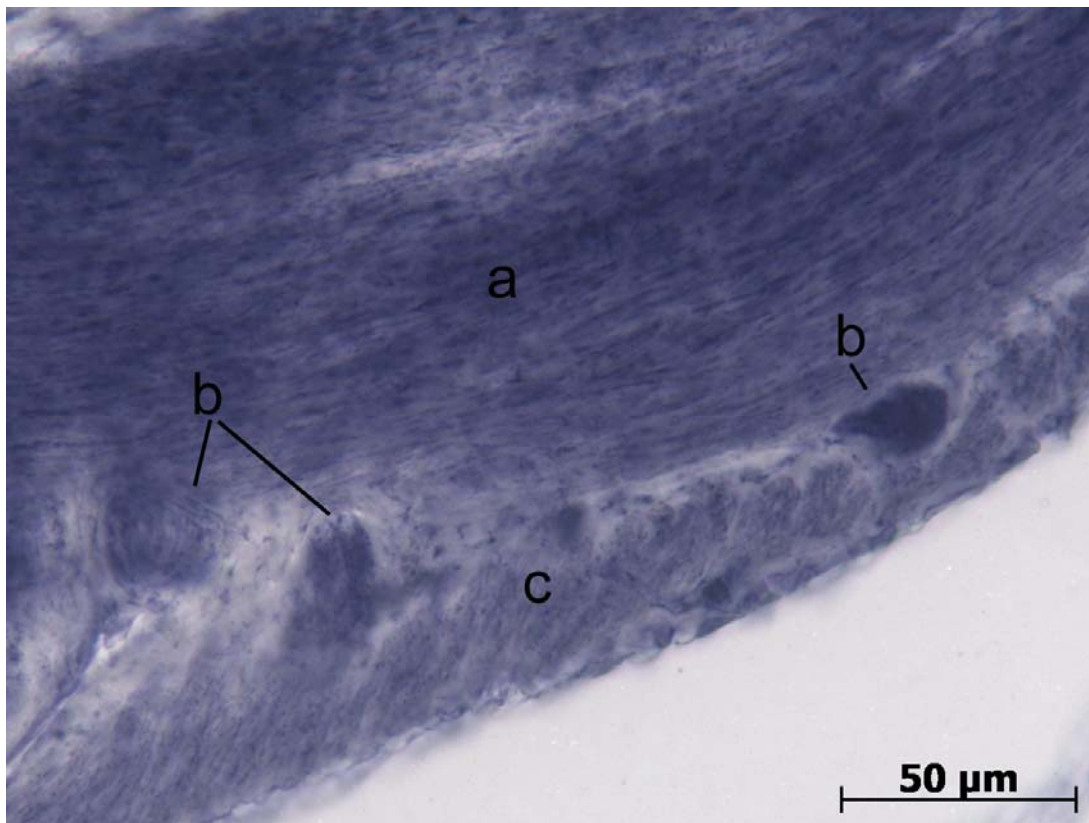


Abb.27 Magen, Auerbach-Plexus, NADPH-Diaphorase

a: Tunica muscularis, innere Radiärmuskelschicht, b: Auerbach-Plexus, c: Tunica muscularis, äußere Längsmuskelschicht

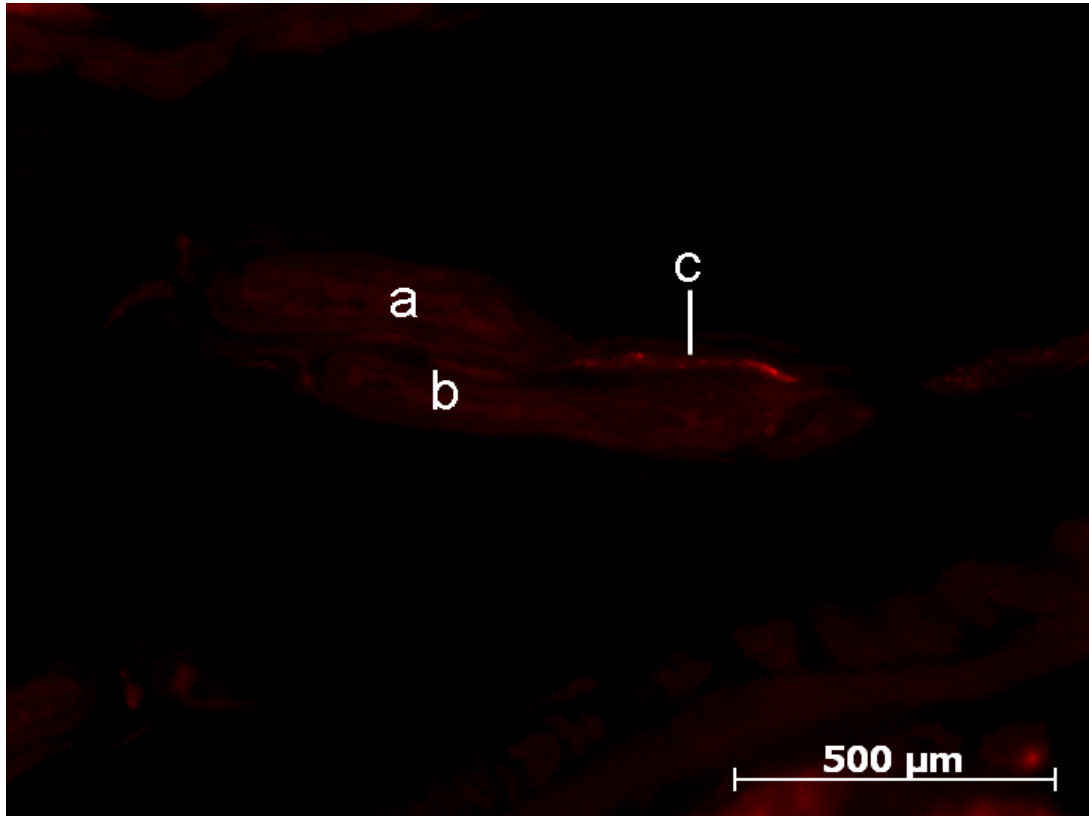


Abb.28 Magen NF Texasred

a: Vene, b: Arterie, c: perivaskuläre Nervenfasern

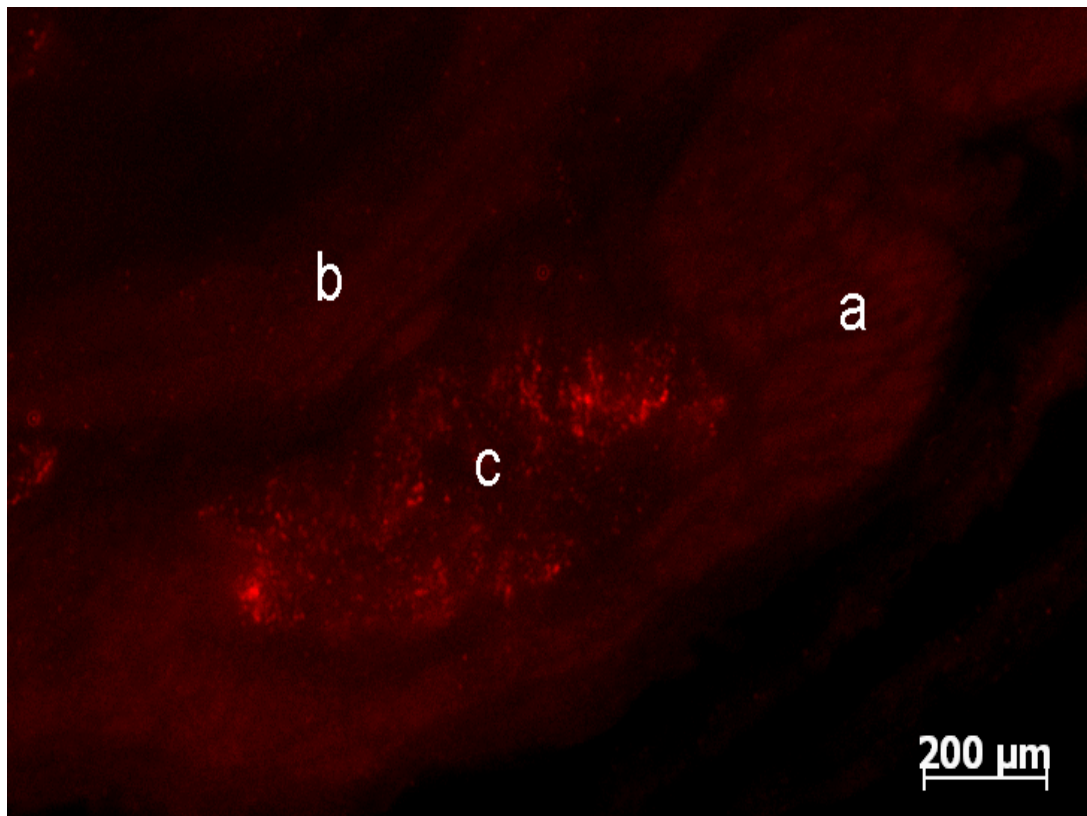


Abb.29 Magen HNK-1 Texasred

a: Tunica muscularis, äußere Längsmuskelschicht, b: innere Zirkulärmuskelschicht, c: Auerbach-Plexus

7.1.3 Dünndarm

Der Dünndarm ist durch die kraniale Einziehung des Pylorussphinkters deutlich vom Magen abgrenzbar und verläuft mit wenigen Kurvaturen von Gekröse und Fettlappen umgeben. Direkt kaudal des Pylorus eröffnen sich Gallen- und Pancreasgänge in den Dünndarm. Einzelne Dünndarmabschnitte sind makroskopisch und histologisch nicht abgrenzbar.

Die Dünndarmschleimhaut liegt ebenso wie die des Ösophagus in Längsfalten, die sich lichtmikroskopisch als kegelförmige Ösophagusfalten darstellen, Zotten (Villi intestinales) sind nicht vorhanden. Das Dünndarmepithel stellt sich in allen untersuchten Darmabschnitten als mehrreihiges, hochprismatisches Epithel dar. Es wird von gleich hohen Mikrovilli-besetzten Enterozyten und Becherzellen gebildet (Abb.31), zwischen denen sich vereinzelt intraepitheliale Lymphozyten befinden, die sich rundlich, klein, dunkel mit rundem Kern darstellen. Die Enterozyten überragen in der Anzahl deutlich die Becherzellen die sich morphologisch einheitlich darstellen.

Die Enterozyten zeigen oval-längliche Kerne, die basal und zentralständig angeordnet sind. Die Kerne der Becherzellen besitzen einen zigarrenförmigen Kern und stellen sich unter Alzianblau-PAS-Färbung dickbauchig, dunkelblau und lila- schleimgefüllt dar. Im Gegensatz

zum Ösophagus, dessen Becherzellen vorwiegend saure Mukopolysaccharide enthalten, sind im Dünndarm eine Häufung der Anzahl neutraler Mukopolysaccharide enthaltender Becherzellen, die sich unter Alzianblau-PAS violett darstellen, zu finden (Abb.30).

Elektronenmikroskopisch unterscheiden sich die Becherzellen nicht von den in Kapitel 7.1.2 für den Ösophagus beschriebenen, lediglich die Kerne erscheinen etwas dunkler, jedoch auch hier mit einer elektronendichten Kernmembran und hellerem Nucleoplasma. Die Kerne der Enterozyten sind kontrastreicher und größer als die der Becherzellen. Apikal sind die Enterozyten mit fingerförmigen Mikrovilli besetzt, unter denen sich das terminal web ohne Zellorganellen befindet. Im Zytoplasma liegen Mitochondrien, Ribosomen, Lysosomen und Lipideinschlüsse, sowie Golgi-Apparate. Die Zell-Zell-Kontakte bestehen im apikalen Zellabschnitt aus Tight junctions, Zonulae adhaerentes und Maculae adhaerentes, die insgesamt die Schlussleiste ausbilden und die sich in Höhe des terminal web unterhalb der Mikrovilli befinden. Elektronenmikroskopisch werden zudem vereinzelt enteroendocrine Zellen mit basaler Körnung vorgefunden.

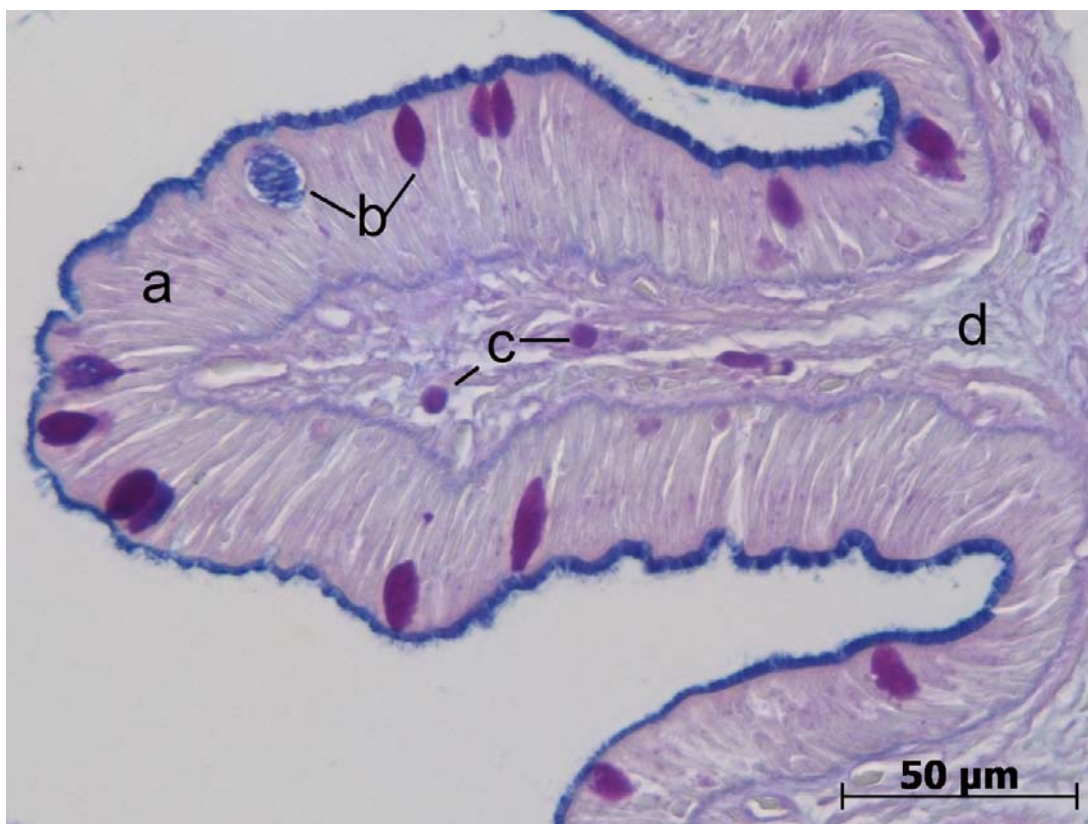


Abb.30 Dünndarm, Alzianblau-PAS

a: Dünndarmepithel, b: Becherzellen mit verschiedenen Schleimqualitäten, c: heterophile Granulozyten, d: Tela submucosa



Abb.31 Dünndarmepithel, H.E.

a: schleimgefüllte Becherzelle, b: Mikrovilli, c: Lamina propria mucosae, d: mononukleäre Rundzelle

Vereinzelt sind bei allen Tieren, vor allem im kranialen Dünndarm, zwischen den Enterozyten dunkle, mononukleäre Rundzellen, vereinzelt Makrophagen sowie heterophile Granulozyten zu finden. Die Lamina propria mucosae ist schwach ausgebildet, hier finden sich Kapillaren und vereinzelt heterophile Granulozyten.

Bei einigen Individuen kann im histologischen Schnitt eine starke Anhäufung heterophiler Granulozyten in allen histologischen Schichten, vor allem in der Tela submucosa und der Lamina propria mucosae gesehen werden, die auf eine geringgradige Enteritis hindeuten. Parasitenstadien oder Einschlüsse sind in diesem Zusammenhang nicht sichtbar.

Die Lamina muscularis mucosae ist schwach ausgebildet, sie zieht mit der Tela submucosa in die Schleimhautfalten hinein. In der Tela submucosa finden sich Gefäße, oft mit Erythrozyten, und Meissner Plexus, heterophile Granulozyten, dunkle, rundkernige mononukleäre Zellen und vereinzelt Mastzellen, die sich unter NADPH-Diaphorase-Staining positiv reagierend darstellen. Die Tunica muscularis besteht aus einer stärkeren, inneren Zirkulär- und einer äußeren Längsmuskelschicht, die von Plattenepithel bedeckt ist.

Elektronenmikroskopisch betrachtet werden Ansammlungen markloser Nervenfasern in der Lamina propria mucosae, der Tela submucosa, sowie als Meissner- und Auerbach-Plexus zwischen den Muskelschichten der Tunica muscularis gefunden. Die Meissner- und Auerbach-Plexus sind auffallend groß und in der Größe mit den im Magen beschriebenen vergleichbar. Wie für den Magen beschrieben (Abb. 25) sieht man hier oft deutlich dense core vesicles und clear vesicles.

Auffällig ist unter dem NADPH-Diaphorase –Staining die Ablagerung bläulicher Präzipitate an der luminalen Seite der Enterozyten. Es zeigen sich sowohl in der Lamina propria mucosae als auch in der Tela submucosa positiv reagierende Gefäßendothelien, sowie epithelnahe und perivaskuläre, positiv reagierende Nervenfasern in der Lamina propria mucosae. Deutlich NOS-aktive Fasern können in Addition zu den o.g. histologischen Schichten auch in der der Lamina muscularis mucosae und der Zirkulärmuskelschicht der Tunica muscularis nachgewiesen werden. Auffallend ist hier die starke Ansammlung dunkelblauer Reaktionsprodukte über beiden genannten Muskelschichten. Zwischen beiden Schichten der Tunica muscularis befinden sich im gesamten Verlauf parallel zur Zirkulärmuskelschicht ringförmig angeordnete, große Auerbach-Plexus mit starker NO-Expression.

Während im Dünndarm keine NPY-Aktivität nachgewiesen wird, entspricht das mittels Immunhistochemie nachgewiesene Vorkommen von HNK-1 und Neurofilament und ihre Anordnungen in der histologischen Schichtung der zuvor für den Magen (Kapitel 7.1.3) beschriebenen (Abb.32, Abb.33).

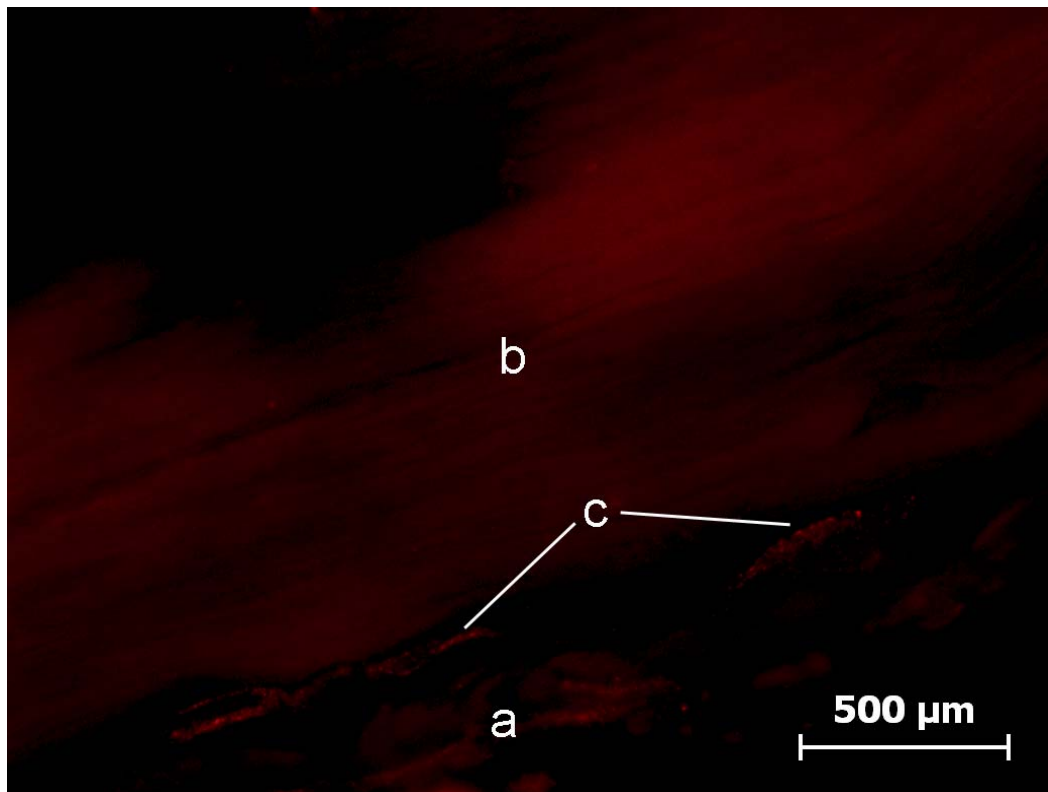


Abb.32 Dünndarm NF Texasred

a: Tunica muscularis, äußere Längsmuskelschicht, b: Tunica muscularis, innere Radiärmuskelschicht, c: Auerbach-Plexus

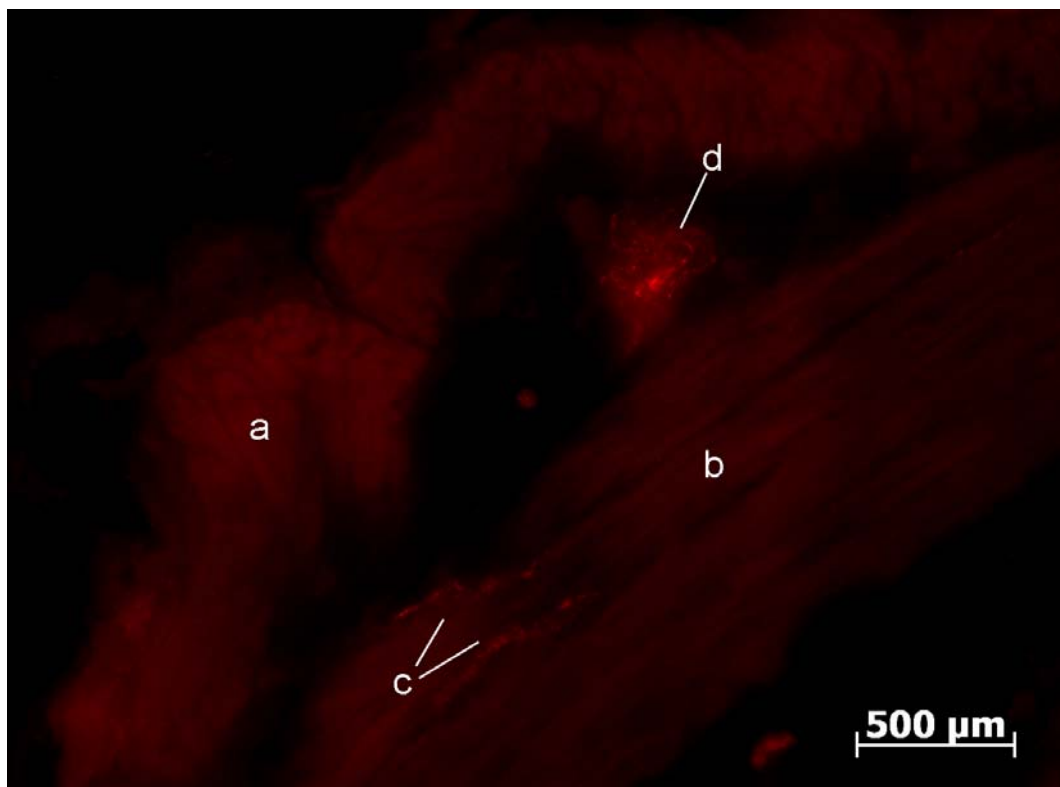


Abb.33 Dünndarm HNK-1 Texasred

a: Tunica muscularis, äußere Längsmuskelschicht, b: Tunica muscularis, innere Radiärmuskelschicht, c: Meissner-Plexus, d: Auerbach-Plexus

7.1.4 Dickdarm

Der Dickdarm bildet kranial ein nur angedeutetes Zäkum als makroskopische Abgrenzung zum Dünndarm aus. Er verläuft gerade von Fettläppchen umgeben von der Höhe des kaudalen Pol der linken Niere bis zum Rektum, welches sich im Coprodeum der Kloake eröffnet.

Die Dickdarmschleimhaut bildet Längsfalten aus, die in der Ausdehnung breiter und in der Faltung weniger stark als im Dünndarm sind. Krypten sind nur ansatzweise ausgebildet. Das Epithel ist mehrreihig hochprismatisch (Abb. 34) und im Gegensatz zum Dünndarmepithel stärker mit Becherzellen durchsetzt, deren Zahl nach kaudal stark zunimmt (siehe Abb.5). Die Alzianblau-PAS – Färbung zeigt eine Füllung mit sauren und gemischt neutralen und sauren Mukopolysacchariden (Abb.35). Wie für den Dünndarm beschrieben (Kapitel 7.1.4) befinden sich auch hier vermehrt Becherzellen, die neutrale Mukopolysaccharide enthalten und sich unter Alzianblau-PAS violett darstellen. Die Enterozyten gleichen den im Dünndarm (Kapitel 7.1.4) beschriebenen; sie sind Mikrovilli-besetzt (Abb.36) mit zigarrenförmigen, basal oder zentral angeordneten Kernen. Zwischen den Enterozyten befinden sich wie im Dünndarm vereinzelt Lymphozyten, die unter der Übersichtsfärbung mit HE einen dunklen, runden, kompakten Kern haben. In der Lamina propria mucosae liegen Kapillaren und kleine Blutgefäße, vereinzelt mit Erythrozyten; es befinden sich dort zudem vermehrt einzelne runde lymphoide Zellen mit dunklem Kern, sowie vereinzelt Makrophagen und heterophile Granulozyten. Vereinzelt können unter HE-Färbung und Goldner-Färbung Meissner-Plexus vorgefunden werden. Die Lamina muscularis mucosae ist nur schwach ausgebildet, und läuft in die Dickdarmfalten hinein. Die Tela submucosa ist stärker als im Dünndarm. Hier liegen Gefäße, die vereinzelt Erythrozyten enthalten, vereinzelt Makrophagen und heterophile Granulozyten. Besonders im kranialen Dickdarmabschnitt finden sich vermehrte Ansammlungen dunkler, mononukleärer Rundzellen. Die Tunica muscularis ist stärker ausgeprägt als im Dünndarm und besteht aus einer starken inneren Zirkulär- und einer äußeren Längsmuskelschicht, der ein einschichtiges Plattenepithel als Serosa aufliegt.

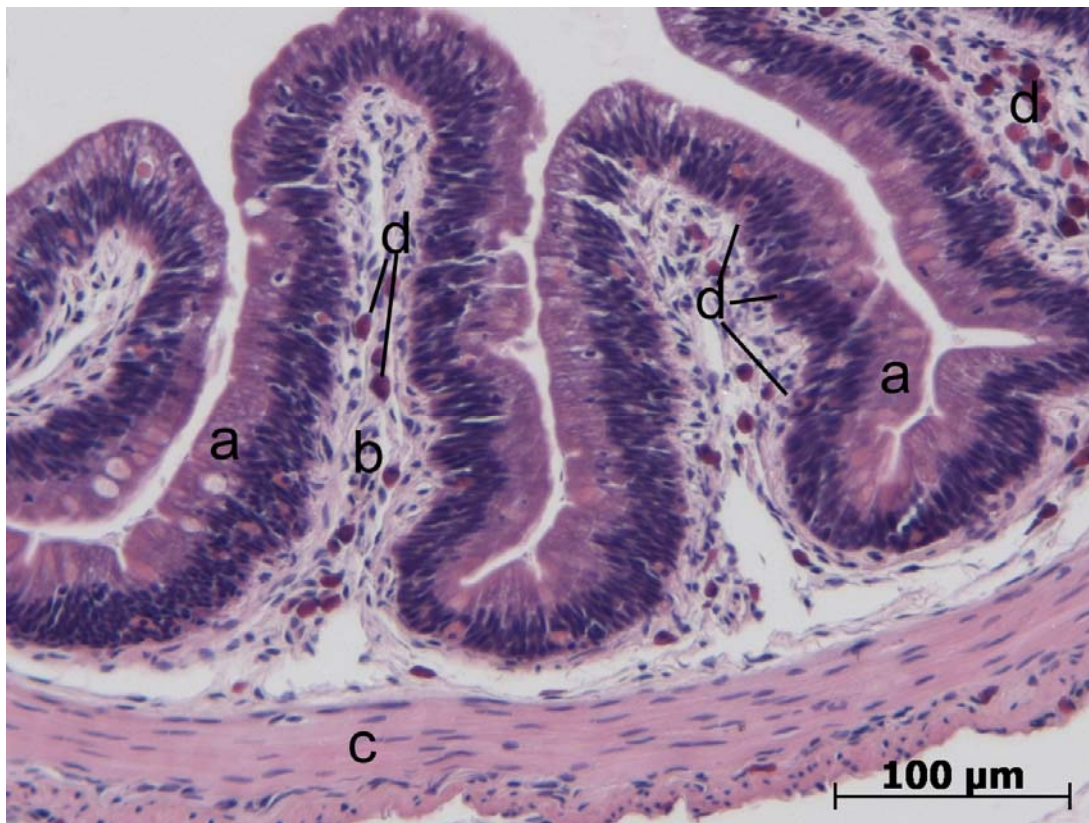


Abb.34 Dickdarm, H.E.

a: Epithel, b: Tela submucosa, c: Tunica muscularis, d: Heterophile Granulozyten

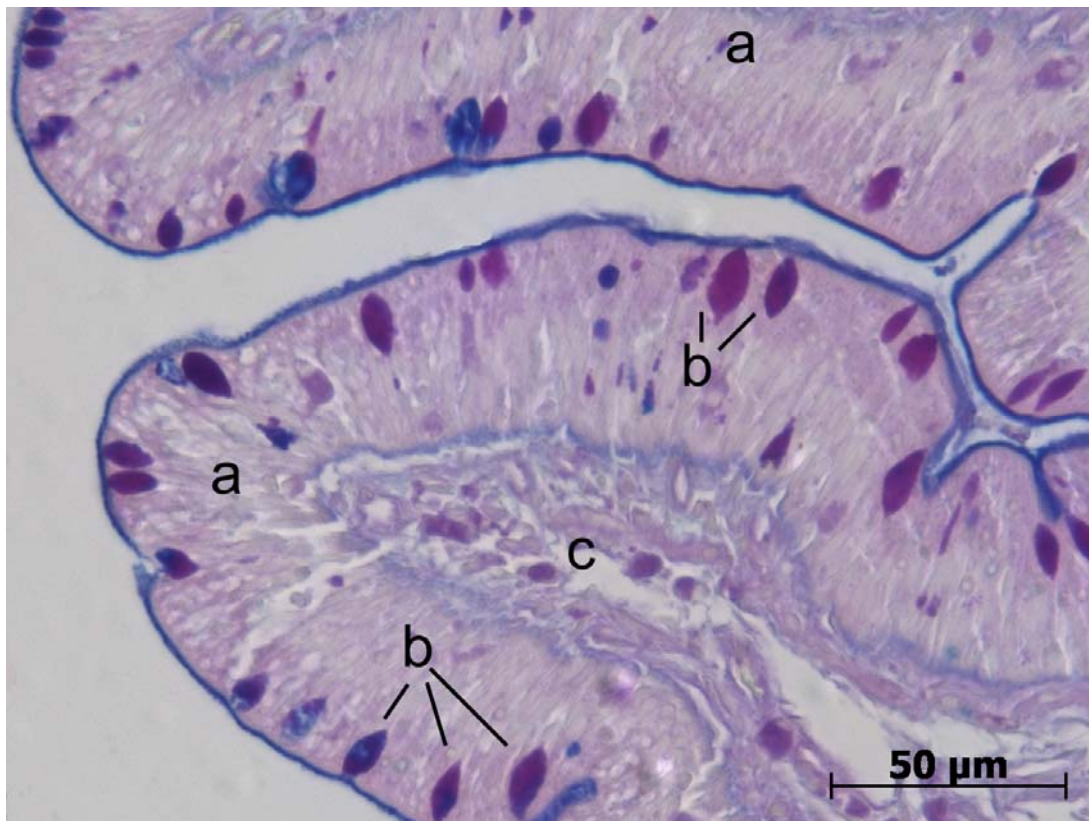


Abb.35 Dickdarmepithel, Alzianblau-PAS

a: Epithel, b: Becherzellen mit verschiedenen Schleimqualitäten, c: Tela submucosa

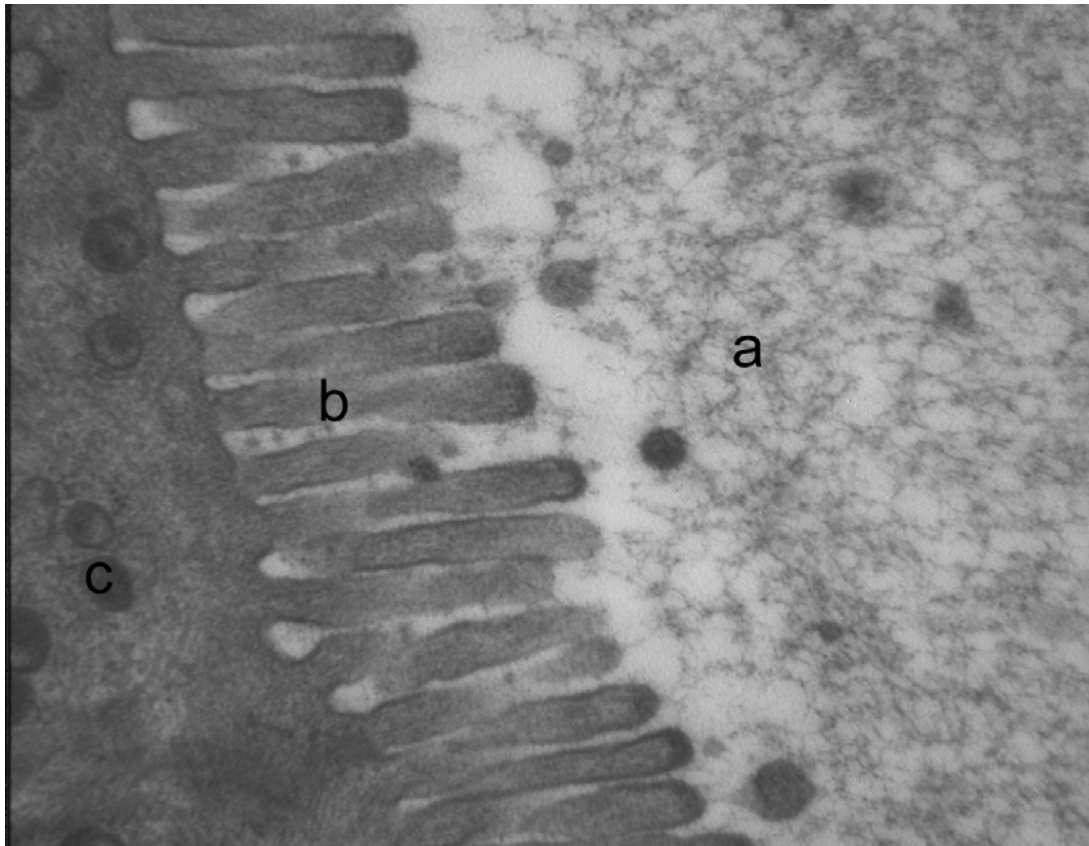


Abb.36 Dickdarmepithel, Mikrovilli, Elektronenmikroskop 30000fach
a: Lumen, b: Mikrovilli, c: Enterozyt

Elektronenmikroskopische Betrachtungen zeigen das Vorkommen von Plexus markloser Nerven in der Lamina propria mucosae, sowie Meissner- und Auerbach-Plexus. Diese sind wie für Dünndarm (Kapitel 7.1.4) und Magen (Kapitel 7.1.3) beschrieben sehr groß und zeigen häufig dichte core vesicles und clear vesicles. Wie bereits für den Dünndarm (Kapitel 7.1.4) beschrieben, kann unter dem NADPH-Diaphorase-Staining die Ablagerung blauer Reaktionsprodukte in den Endothelzellen von Gefäßen und Kapillaren beobachtet werden. Auch hier reagieren Gefäßendothelien der Lamina propria mucosae und der Tela submucosa positiv auf die Färbung. Eine stärkere Präzipitatablagerung wird im epithelnahen Bereich der Lamina propria mucosae beobachtet. NO-exprimierende Fasern werden über die ganze Ausdehnung der Tela submucosa, der Lamina propria mucosae, der Lamina muscularis mucosae und der Tunica muscularis vorgefunden (Abb. 37). Auffallend ist auch hier die starke Reaktion der Lamina muscularis mucosae und der inneren Ringmuskelschicht der Tunica muscularis. Wie im Dünndarm befinden sich ringförmig um das Präparat angeordnete Auerbach-Plexus zwischen beiden Schichten der Tunica Muscularis, die unter NADPH-Diaphorase ebenfalls stark reagieren. Das mittels Immunhistochemie nachgewiesene Vorkommen von Neurofilament und seine Anordnung in der histologischen Schichtung entspricht der für den Magen (Kapitel 7.1.3) beschriebenen

(Abb.38, Abb.39). Während im Dickdarm keine NPY-Aktivität nachgewiesen wird, entspricht das immunhistochemisch nachgewiesene Vorkommen von HNK-1 und Neurofilament und ihre Anordnungen in der histologischen Schichtung der für den Magen (Kapitel 7.1.3) beschriebenen.

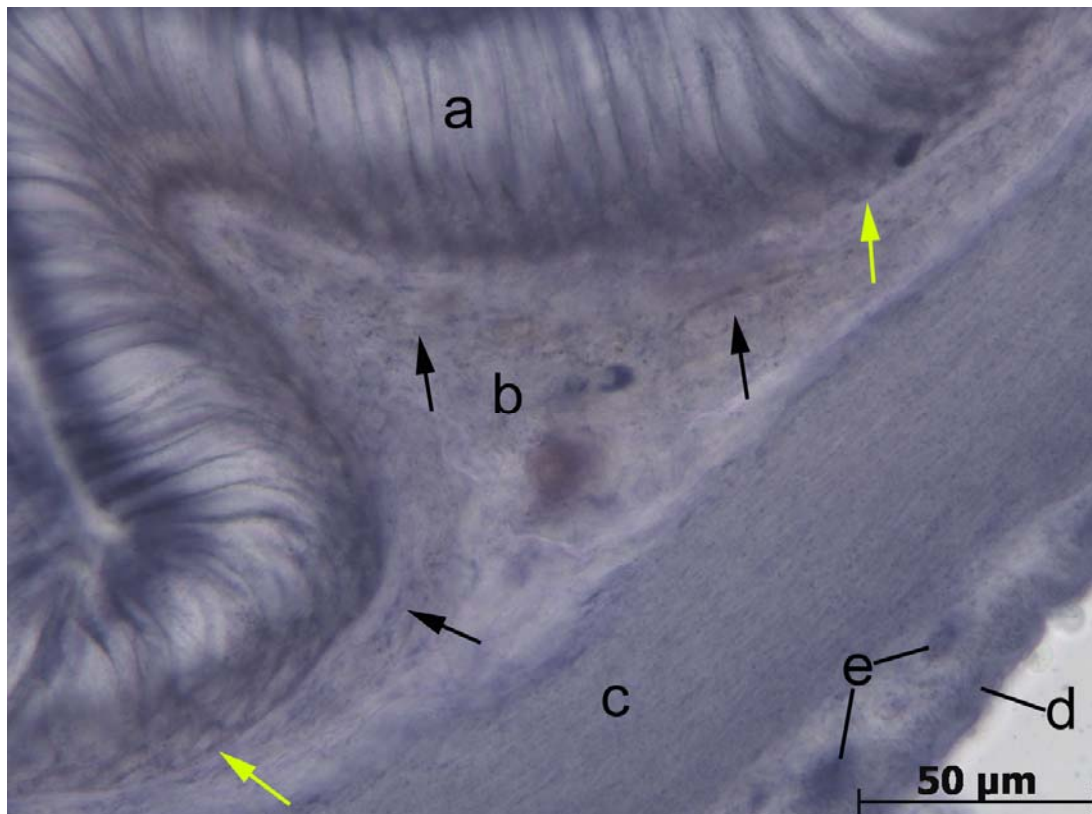


Abb.37 Dickdarm, NADPH-Diaphorase

a: Epithel, b: Tela submucosa, c: Tunica muscularis, innere Radiärmuskelschicht, d: Tunica muscularis, äußere Längsmuskelschicht, e: Auerbach-Plexus, gelber Pfeil: Nervenfasern in der Lamina propria mucosae, schwarzer Pfeil: Nervenfasern in der Tela submucosa

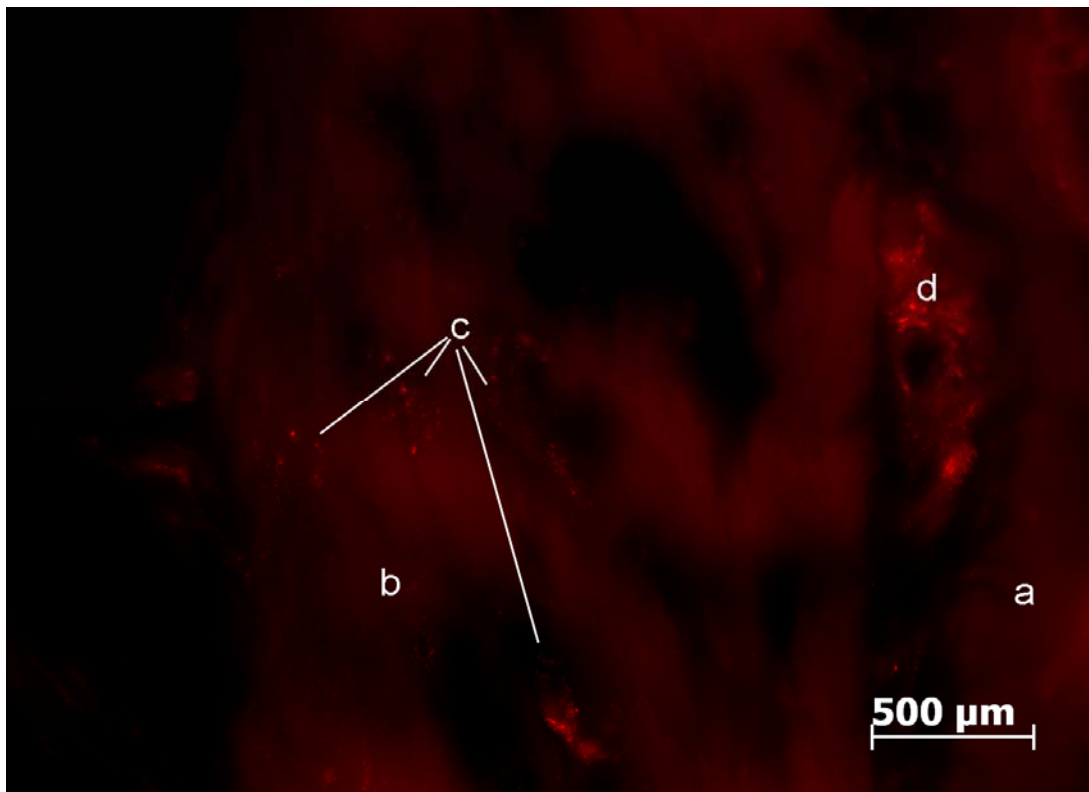


Abb.38 Dickdarm NF Texasred

a: Tunica muscularis, äußere Längsmuskelschicht, b: Tunica muscularis, innere Radiärmuskelschicht, c: Meissner-Plexus d: Auerbach-Plexus

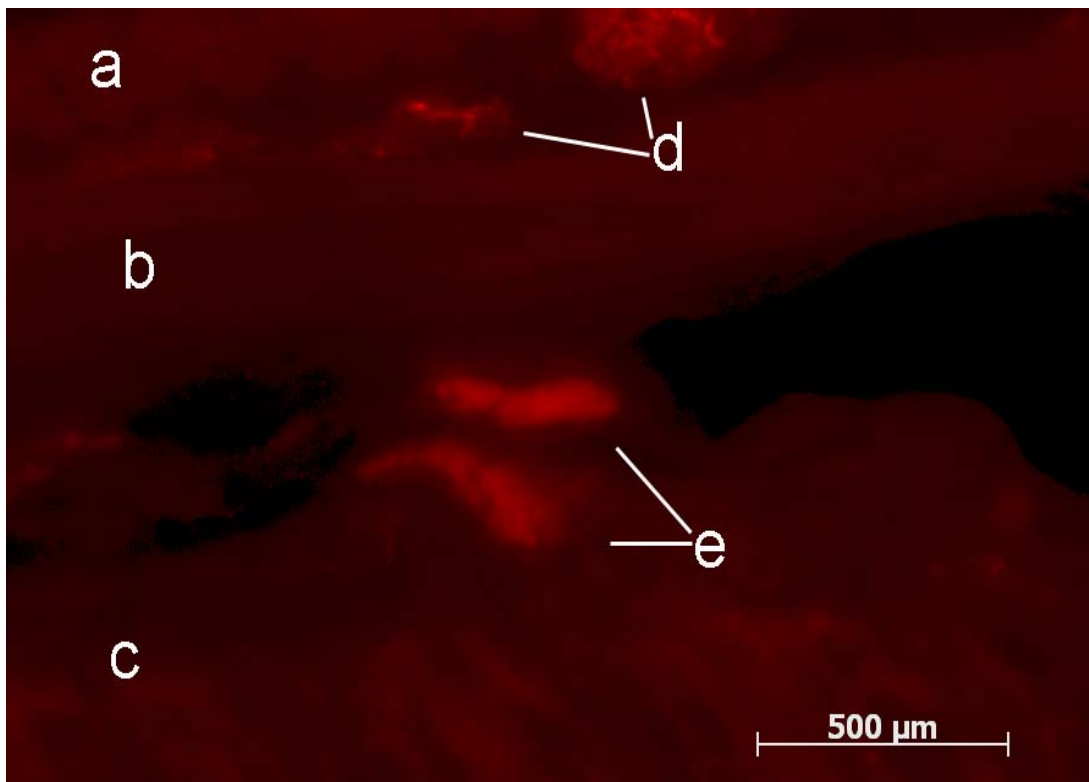


Abb.39 Dickdarm HNK-1 Texasred

a: Tunica muscularis, äußere Längsmuskelschicht, b: Tunica muscularis, innere Radiärmuskelschicht, c: Tela submucosa, d: Auerbach-Plexus, e: Meissner-Plexus

8 Diskussion

8.1 Kritik der Methodik

8.1.1 Versuchstiere

Die in dieser Studie eingesetzten 9 Tiere stammen aus einem einheitlichem Bestand, was die Homogenität im Haltungsstandard und im Gesundheitszustand der Tiere sichert.

Das Geschlecht der Tiere konnte in einigen Fällen nicht sicher differenziert werden. Dies ist durch eine teilweise mangelnde Ausprägung der Gonaden und eine mangelnde Möglichkeit der Sondierung aufgrund der geringen Größe der Versuchstiere bedingt.

Bei der Sektion zeigte sich, daß der Ernährungszustand aller Tiere gut war. Neben abdominalem Fettgewebe wurde im Gastrointestinaltrakt fast aller Tiere Ingesta vorgefunden. Da chronisch oder akut schwer kranke Tiere meist die Futteraufnahme verweigern (KÖLLE 2003), kann auf einen guten Gesundheitszustand der Tiere geschlossen werden. Dies wird weiterführend auch durch die histologischen Untersuchungen bestätigt.

8.1.2 Präparation und Färbungen

Durch Dekapitation der Versuchstiere konnte eine zeitnahe Entnahme von durch den Tötungsvorgang histologisch unbeeinflussten Organen gewährleistet werden. Die sofortige Fixierung verhinderte die Autolyse der Organe.

Aufgrund der geringen Größe der Tiere und des entnommenen Probenmaterials war keine Perfusionsfixation möglich. Die Fixierung der Proben geschah durch Immersion, welche sich durch die geringe Organgröße und – dicke als geeignete Methode zeigte (ROMEIS 1989a).

Als Fixierungsmedium wurde Paraformaldehyd-Lösung 4% eingesetzt. Diese hat gegenüber der Verwendung von Formalin als Fixierungsmedium den Vorteil, dass kein Methanol zur Stabilisierung enthalten ist, welches eine Antigenmaskierung und somit ein Verfälschen der immunhistochemischen Ergebnisse verursachen könnte.

Als Übersichts- und Spezialfärbungen für die Licht- und Elektronenmikroskopie, sowie immunhistochemischen Untersuchungen wurden standardisierte Färbemethoden angewandt (ROMEIS 1989b, 1989c, 1989d, PLATTNER und ZINGSHEIM 1987).

Um optimale Ergebnisse bezüglich Strukturerhalt und Gewebsmorphologie zu erhalten, wurden für die Übersichtsfärbungen Paraffinschnitte angefertigt.

Da die immunhistochemisch nachzuweisenden Antigenstrukturen nur mittels Kreuzreaktivität detektiert werden konnten, wurde diese Methode zur Erzielung eines optimalen Ergebnisses auf Gefrierschnitten angewandt, um eine eventuelle Veränderung der Antigenstruktur durch die Vorbehandlung des Gewebes zur Paraffineinbettung zu vermeiden.

Für die enzymatische Reaktion mit NADPH-Diaphorase wurden ebenfalls Gefrierschnitte eingesetzt, da es aufgrund der Hitzeentwicklung bei Paraffineinbettung zur Denaturierung der Proteine gekommen wäre. Die Schnittdicke wurde hier mit 25 µm dicker gewählt, damit die Reaktion gut sichtbar und die Beurteilung präziser durchgeführt werden konnte.

Da für die immunhistochemischen Untersuchungen keine speziesspezifischen Antikörper zur Verfügung stehen, wurden basierend auf der Kreuzreaktivität von Antikörpern Antikörper anderer Spezies eingesetzt. Um die Spezifität der immunhistochemischen Reaktionen zu gewährleisten, wurden Negativ-, Positiv-, und interne IHC-Kontrollen mitgeführt. Dies galt ebenso für die Färbungen mit NADPH-Diaphorase.

Für die immunhistochemischen Untersuchungen wurde die Fluoreszenz, und nicht die andere generelle Option eines Nachweises mittels Peroxidase gewählt. Dies wird damit begründet, daß die Organe durch Immersion fixiert wurden. Die Reaktion, die benutzt wird, um Peroxidase sichtbar zu machen, ermöglicht keine Unterscheidung der Genese der nachgewiesenen Peroxidase. Da sich endogene Peroxidase-Aktivität auf Erythrozyten und Leukozyten findet, wäre beim Nachweis an immersionsfixierten Präparaten eine Verfälschung der Ergebnisse durch noch im Gewebe vorhandene Blutzellen anzuführen. Eine Hemmung der endogenen Peroxidase mittels Wasserstoffperoxid und Methanol wäre möglich, würde aber die Gewebsstruktur stark angreifen (BOURNE 1989).

8.2 Ergebnisse

Die Verdauung bei Schlangen ist wie bereits erläutert ein komplexer Vorgang, an die sich die Anatomie und Histologie der Schlange angepasst hat.

Diese anatomischen Besonderheiten waren schon früh von Interesse für die Wissenschaft. Bisherige Untersuchungen zur Histologie des Verdauungstrakts der Schlangen waren allerdings meist fragmentarisch. So führten bereits im Jahr 1943 REIS und LYONS histologische Untersuchungen am Verdauungstrakt von *Thamnophis sirtalis* durch, jedoch

waren diese auf den kranialen Darmabschnitt beschränkt, und bezogen sich auf lediglich zwei untersuchte Tiere. Erst in den letzten Jahren rückte die Histologie des Gastrointestinaltrakts von Schlangen wieder in das wissenschaftliche Interesse, hier jedoch vorwiegend bezogen auf große Würgeschlangen (STARCK und BEESE 2001, LUZ 2002). Weiterführende Untersuchungen am Gastrointestinaltrakt von *Thamnophis sirtalis* (STARCK und BEESE 2002) waren auch hier mit enger Fragestellung auf den Dünndarm fokussiert. Anhand der in dieser Dissertation erhaltenen Ergebnisse soll der histologische Aufbau des gesamten Magen-Darm-Trakts, seine Drüsenausstattung sowie seine Innervation als grundlegende Untersuchung zur Histologie und Verdauungsphysiologie einer aktiv jagenden Schlange mit vorherigen Arbeiten verglichen, ergänzt und diskutiert werden.

8.2.1. Histologie

8.2.1.1 Ösophagus

Die starke Faltung der Ösophagusschleimhaut ermöglicht *Thamnophis sirtalis sirtalis* eine große Dehnbarkeit des Organs, und damit eine hohe Belastung beim Abschlucken großer Beutetiere ohne Rupturierung des Ösophagus. Das Abschlucken lebendiger Beutetiere, die im Magen durch Ersticken verenden (ENGELMANN und OBST 1981), wird neben den beschriebenen Speicheldrüsen des Kopfes (KARDONG 1980, KARDONG und LUCHTEL 1986, MUTSCHMANN 1995, KARDONG 1996) durch die spezielle Anpassung der Ösophagusschleimhaut ermöglicht, die vorwiegend aus schleimproduzierenden Becherzellen besteht. Die von SCHUHMACHER (1927) und LUPPA (1977) beschriebene Zunahme der Becherzellen im kraniokaudalen Organverlauf kann für die untersuchte Schlangenart bestätigt werden und unterstreicht die zum Beutetransport benötigte Funktion dieser unizellulären, exokrinen Drüsen. Das morphologische Kennzeichen der Becherzelle ist licht- und elektronenmikroskopisch die Füllung mit membranbegrenzten Sekretvesikeln. Diese Proteine und Glykokonjugate enthaltenden Vesikel können bei Bedarf freigesetzt werden, was für den Nahrungstransport von großer Wichtigkeit ist, da die Beute hauptsächlich durch peristaltische Bewegungen der Halsmuskulatur und Wirbelsäule nach kaudal bewegt wird (ENGELMANN und OBST 1981, GASC 1998) und somit schnell „gleitfähig“ gemacht werden muss. Auch die von LUZ (2002) vermutete Schleimhautbarriere gegen sauren Magenreflux kann in diesem Zusammenhang angeführt werden.

Die lichtmikroskopisch vorgefundenen zwei Typen von Becherzellen, ein Typ dick und rundlich, der andere Typ schlank und länglich, weisen auf unterschiedliche Stadien im

Entwicklungszyklus der Becherzellreifung hin (LUPPA 1977, LUZ 2002). Dies trifft ebenso für die durch Alzianblau-PAS durchgeführte Muzindifferenzierung der Becherzellen zu. Die hier vorgefundenen zwei Typen von Becherzellen und die verschiedenen Schleimzusammensetzungen mit vorwiegend sauren, neutral-sauren oder neutralen Mukopolysacchariden sind, wie von LUPPA (1977) beschrieben, auf unterschiedliche Stadien der Schleimreifung zurückzuführen. Dabei ist zu bemerken, dass sich der Schleim der Becherzellen des Ösophagusepithels nicht gleichzeitig und untereinander homogen entwickeln, sondern sich einzelne Becherzellen differenzieren lassen, die eine andere Schleimqualität als die sie umgebenden Becherzellen besitzen.

Die Epithelzellen tragen im Gegensatz zu denen der Säugetiere und wie für Schlangen von LUPPA (1977) beschrieben, bei *Thamnophis sirtalis sirtalis* Zilien, die sich bereits lichtmikroskopisch als feine Härchen darstellen. Da, wie schon beschrieben, das Abschlucken von Beutetieren durch Einschleimen der Beute und hauptsächlich durch Peristaltik von Wirbelsäule und Halsmuskulatur bewältigt wird (ENGELMANN und OBST 1981, GASC 1998), kommt Ihnen eine unterstützende Funktion im Transport und gerichteten Schleimfluss zu, vergleichbar dem respiratorischen Epithel von Säugetieren.

In der Lamina propria befinden sich kleine Gefäße und vereinzelt Lymphozyten. Von LUPPA (1977) und GEGENBAUR (1901) bei Schildkröten und Alligatoren beschriebene Drüsen werden in dieser Studie nicht vorgefunden. Die Lamina muscularis mucosae ist im gesamten Verlauf des Ösophagus zweischichtig, was der Beschreibung von JACOBSON (2007), der diese Zweischichtigkeit nur für den kaudalen Ösophagusabschnitt beschreibt, entgegensteht. Ebenfalls kann das vom gleichen Autor für Schlangen beschriebene mögliche Auftreten von GALT-artigen Tonsillen in der Tela submucosa bei *Thamnophis sirtalis sirtalis* nicht vorgefunden werden.

Die in dieser Schicht liegenden, scherengitterartig angeordneten kollagenen Fasern gewährleisten zusätzlich zur starken Faltung des Organs eine hohe Stabilität bei starker Dehnung. Die Schichtung der Tunica muscularis entspricht den Literaturangaben, jedoch wurde entgegen GEGENBAUR (1901) auch im kranialen Ösophagusabschnitt eine äußere Längsmuskelschicht nachgewiesen.

8.2.1.2 Magen

Makroskopisch können Fundus und Pylorus voneinander abgegrenzt werden. Eine dem Säuger vergleichbare Cardia-Zone ist makroskopisch nicht sichtbar.

Histologisch kann vor diesem Bereich jedoch eine Region gezeigt werden, die als „Mageneingang“ beschrieben werden kann. Sie besitzt den histologischen Aufbau des Ösophagus, in der Abgrenzung dazu sind die Schleimhautfalten geringer in der Anzahl und deutlich flacher. Die Dominanz von Becherzellen in diesem Abschnitt lässt auf seine Funktion als Schleimhautbarriere gegen sauren Magenreflux folgern.

Wie beim Ösophagus ist auch die Schleimhaut des Magens in Falten gelegt und ermöglicht *Thamnophis sirtalis sirtalis* eine hohe Dehnbarkeit des Organs. Im Gegensatz zum Säugetier sind die Magengruben auffallend deutlich flacher und kleiner ausgeprägt.

Um Fäulnis im Darmtrakt zu verhindern, muss die Beute schnell verdaut werden (POUGH et al. 1998); eine Königsboa braucht dazu unter Optimalbedingungen 7-9 Tage (ENGELMANN und OBST 1981). Es ist anzunehmen, dass die Verdauungsvorgänge bei *Thamnophis*, welche im Gegensatz zu „sit-and-wait“ Schlangen aktive Jäger sind, schneller vonstatten geht. Dabei sind die Verdauungsvorgänge bei Schlangen stark von der Temperatur der Umgebung abhängig (BELLAIRS 1969, SKOCZYLAS 1970, TOLEDO et al. 2003, JACOBSON 2007). Bei niedrigen Temperaturen unter ca. 10 °C findet keine Verdauung statt, und die Beute muss ausgewürgt werden, um ein Verwesen im Magen-Darm-Trakt zu verhindern (GASC 1998, KÖLLE 2003). Die zur Verdauung benötigten Enzyme werden in den Zellen der Magendrüsen produziert. Bei vorliegenden Untersuchungen werden in der Lamina propria mucosae zwei Zellen der Magendrüsen differenziert, die Drüsenhalszellen und die von GABE und SAINT GIRON (1972) als „dark cells“ beschriebenen Drüsenzellen, die LUPPA (1977) als „main cells“ bezeichnet. Allerdings konnte die von LUPPA (1977) beschriebene Granula in diesen Zellen lichtmikroskopisch nicht nachgewiesen werden. Dies war nur mittels der Elektronenmikroskopie möglich. Damit ist *Thamnophis sirtalis sirtalis* wie die meisten Colubridae in der von GABE und SAINT GIRON (1972) aufgestellten Einteilung anhand der Magendrüsen dem zweiten Typ des Magenbaus zugehörig. So kann für *Thamnophis sirtalis sirtalis* vermutet werden, daß, wie von LUPPA (1977) für andere Schlangenarten und von RUIZ et al. (1993) für *Bufo marinus* nachgewiesen, in den „dark cells“ die Funktion von Hauptzellen und Belegzellen kombiniert wird und wie von RUIZ et al. (1993a, 1993 b) für *Bufo marinus* beschrieben Pepsinogen und HCl durch in diesem Falle Stimulation mit Histamin oder Acetylcholin parallel sezerniert werden können. Darauf weist auch der anatomische Aufbau hin, der einen hohen Anteil von Ergastoplasma und einen für Belegzellen typischen Mikrovillibesatz (ROHEN und LÜTJEN-DRECOLL 1996) zeigt, dessen Höhe nach LUPPA (1977) abhängig von der Zellaktivität ist. Die apikale Zymogengranula, sowie das basale Vorkommen von Ribosomen und Golgi-Apparat sind nach HELANDER (1962) Indikatoren für Pepsinogen-Produktion. Für eine den Belegzellen der Säuger entsprechende Produktion von HCl sprechen die im apikalen Zellbereich

vorgefundenen vakuolären Strukturen (SEDAR 1952, SEDAR 1957, HELANDER 1962). Die von GABE und SAINT GIRON (1964) beschriebene leichte PAS-Reaktivität der „dark cells“ bei der Brückenechse findet sich bei den vorgenommenen Untersuchungen beim Drüsenquerschnitt nur im apikalen Zellbereich.

Kapillare liegen wie beim Menschen auffallend stark ausgeprägt im apikalen Bereich der Lamina propria mucosae. Die Anordnung von Kapillaren im basalen und apikalen Schichtverlauf ermöglicht dort den Transport der von Belegzellen produzierten Bikarbonationen in das apikale Kapillarnetz, von wo sie an das Oberflächenepithel abgegeben werden und vom Lumen her ins Epithel eindringende freie H^+ -Ionen neutralisieren können (ROHEN und LÜTJEN-DRECOLL 1996). Eine diesem Mechanismus entsprechende Funktion kann aufgrund der anatomischen Anordnung auch bei *Thamnophis sirtalis sirtalis* vermutet werden.

Da, wie bereits erläutert, die Verdauung bei Schlangen sehr effizient und schnell ablaufen muss, bevor es zur autolytischen Toxinfreisetzung im Verdauungstrakt kommt, ist neben einer schnellen und effizienten Bereitstellung von Verdauungsenzymen und -säuren eine große Schleimhautprotektion zum Schutz vor Selbstverdauung und bakterieller Besiedelung von hoher Wichtigkeit. Eine wie für Säugetiere (LIEBICH 1999) und Menschen (ROHEN und LÜTJEN-DRECOLL 1996) beschriebene zytoprotektive Schleimbarriere bilden die von den Nebenzellen entsprechenden Drüsenhalszellen produzierten sauren Mukopolysaccharide, sowie die in den apikalen Zonen der Epithelzellen gebildeten Mukopolysaccharide. Entgegen der Beschreibung von LUPPA (1977), der die Zusammensetzung der Magenepithelien von Schlangen als von sauren Mukopolysacchariden dominiert mit vereinzelter Vorkommen neutraler Komponenten beschreibt, werden bei eigenen Untersuchungen Schleimkomponenten vorgefunden, die individuell unterschiedlich aus sauren Anteilen oder sauren und neutralen Komponenten bestehen, was wie bei den Becherzellen auf verschiedene Stadien der „Schleimreifung“ im Bezug zur Futteraufnahme hindeutet. Es ist anzunehmen, dass wie für den menschlichen Magen (ROHEN und LÜTJEN-DRECOLL 1996) beschrieben, eine stabile Verankerung der Schleimschicht durch die Mikrovilli der Zylinderepithelzellen ermöglicht wird. Die im Bereich der Magengruben liegenden, sich eher kubisch, mit oval-rundlichem Kern darstellenden Epithelzellen könnten, wie schon von LUZ (2002) diskutiert, den schleimproduzierenden Isthmuskzellen der Säugetiere entsprechen. Auch sie zeigen unter der Alzianblau-PAS-Färbung Produktion saurer und neutraler Mukopolysaccharide. Eine mögliche Funktion als Ersatzzelle, die, wie von LIEBICH (1999) für den Säuger beschrieben, bei Bedarf Haupt-, Neben- oder Belegzelle ersetzt, ist an dieser Stelle ebenfalls zu diskutieren.

Die histologische Anordnung der tieferen Schichten entspricht der für den Ösophagus beschriebenen. Auffallend ist hier histologisch die für die Magenperistaltik benötigte starke Lamina muscularis mucosae und Tunica mucosae.

Hervorzuheben ist in diesem Zusammenhang die zweischichtige Lamina muscularis mucosae, die beim Säugetier einschichtig ausgebildet ist.

Die im elektronenmikroskopischen Bild beobachtete dichte Anordnung von kollagenen Fasern der Tela submucosa ermöglicht eine hohe Widerstandskraft bei starker Organdehnung.

8.2.1.3. Dünndarm

Die Dünndarmschleimhaut liegt in Falten, eine Ausbildung von Zotten im Reptiliendarm wird in der Literatur widersprüchlich diskutiert (REIS und LYONS 1943, LUPPA 1977, STARCK und BEESE 2002, LUZ 2002, JACOBSON 2007). Bei den eigenen Untersuchungen wurden jedoch keine Villi intestinales vorgefunden, was den Untersuchungen von REIS und LYONS (1943) an *Thamnophis sirtalis* entspricht.

Grundsätzlich ist im Dün- und Dickdarmepithel eine geringere Anzahl Becherzellen zu finden als im Ösophagus, ihre Zahl nimmt im kraniokaudalen Darmverlauf allerdings zu. Dabei kommt es, wie bereits von STARCK und BEESE (2002) beschrieben, nicht wie im Ösophagus zu einer vollständigen Verdrängung von Enterozyten, was im Widerspruch zu den Untersuchungen von BAECKER (1934) und REIS und LYONS (1943) steht, die eine sehr hohe, partiell die Enterozyten verdrängende Anzahl von Becherzellen für den Dünndarm von *Thamnophis sirtalis* beschrieben. Der im Dünndarm produzierte Schleim hat die dem Magenschleim entsprechende Funktion des Schutzes vor Selbstverdau und bakterieller Besiedelung, wobei die geringe Anzahl der Becherzellen, vor allem im proximalen Dünndarmabschnitt, durch den Schleim der Pylorusdrüsen kompensiert wird. Die Becherzellen stellen sich morphologisch einheitlich dar; individuell kann verschiedene Schleimzusammensetzungen beobachtet werden, wobei im Vergleich mit dem Ösophagus der Anteil neutraler Mukopolysaccharide im Darm steigt.

Das in eigenen Untersuchungen vorgefundene mehrreihige Darmepithel ist nach Untersuchungen von STARCK und BEESE (2002) als Epithel von Schlangen mit gewisser Nahrungskarenz zu deuten. Die genannten Autoren konnten eine Abhängigkeit der Darmepithelmorphologie vom Fütterungszustand nachweisen. Bei Nahrungsangebot zeigt sich das Epithel als einreihiges, hochprismatisches Epithel mit basal gelegenen Zellkernen;

Mitochondrien und andere Zellorganellen befinden sich im apikalen Pol der Enterozyten. Ein gut ausgebildeter Bürstensaum und eine große Anzahl Lipidtröpfchen innerhalb der Zelle sind nachweisbar. Die Kerne der Enterozyten fastender Schlangen hingegen sind in mehrere Reihen angeordnet, sie sind auf der gefalteten Basalmembran verankert. Die Enterozyten zeigen keine oder wenige Lipideinschlüsse, die Mikrovilli sind kürzer als bei verdauenden Tieren. Dieses pseudo-mehrreihige Epithel, welches morphologisch zwischen einem mehrreihigen und einem hochprismatischen, einreihigen Epithel wechselt, bezeichnen STARCK und BEESE (2002) als charakterisierend für ein Übergangsepithel. Untersuchungen an Burmesischen Pythons und Klapperschlangen als Prototypen für inkontinuierlich fressende Schlangen konnten eine Zunahme von Stoffwechselrate und Sauerstoffverbrauch bei Nahrungsaufnahme nach längerer Fastenperiode aufzeigen (SECOR et al. 1994, SECOR und DIAMOND 1997). Dabei zeigte sich, dass die Masse des Darmepithels sich innerhalb eines Tages verdoppeln konnte. Während SECOR und DIAMOND (1997) die „pay-before-pumping“- Theorie aufstellten, bei der für die Resorption benötigten Umbauvorgänge erst Energie bereit gestellt werden muss, zeigten STARCK und BEESE (2001, 2002), dass die beschriebene Massenzunahme und Oberflächenvergrößerung der Mucosa bei Burmesischen Pythons und *Thamnophis sirtalis* vornehmlich durch Zellhypertrophie und nicht durch energieaufwändige Proliferation wie bei Säugetieren erwirkt wird. Diese Annahme wird durch das Vorfinden einer gefalteten Basallamina bei elektronenmikroskopischer Untersuchung gestützt. Eine Massenzunahme der Enterozyten einen Tag nach Fütterung wird von den Autoren mit der Einlagerung von Lipidtröpfchen erklärt. Zudem wiesen die genannten Autoren nach, daß eine Vergrößerung der resorptiven Oberfläche durch verstärkten Blut- und LymphEinstrom in der Lamina propria mucosae herbeigeführt wird, welche die von ihnen beschriebenen Zotten „aufpumpen“. Auch intestinale Serosa, Leber, Niere und Pancreas erhöhten ihre Masse (SECOR et al. 1994, SECOR und DIAMOND 1997, STARCK und BEESE 2001). Die gleichen Organe atrophierten während längerer Fastenperioden. Diese Auf- und Abregulation ermöglicht das Einsparen von Energie während längerer Fastenperioden (SECOR und DIAMOND 1997, SECOR und DIAMOND 2000).

Den gleichen Effekt der Anpassung von Organen bei Nahrungsangebot konnten STARCK und BEESE (2002) für *Thamnophis sirtalis parietalis* nachweisen, hier ist er jedoch nicht so stark ausgeprägt wie bei Burmesischen Pythons. Dieses Ergebnis der weniger starken Regulation zeigt sich bei den eigenen Untersuchungen, bei denen bei beiden Epitheltypen des Ösophagus nur ein Epitheltyp im Dünndarm vorgefunden wurde, während bei starker Regulation zumindest bei einem Epitheltyp des Ösophagus ein einreihiges Dünndarmepithel zu erwarten gewesen wäre.

Zellproliferation wurde von STARCK und BEESE (2002) erst wieder bei der Herunterregulation der Zellmassen nach Verdauung beobachtet. Bei Reptilien im Allgemeinen ist jedoch, im Gegensatz zu Säugetieren, wo Zellproliferation in den Lieberkühn'schen Krypten stattfindet, noch unklar, ob Zellteilung auch entlang des ganzen Epithelsaums stattfindet (JACOBSON 2007).

Verschiedene Autoren (OPPEL 1896, REIS und LYONS 1943, STARCK und BEESE 2001) beschrieben in der Lamina propria mucosae das Vorkommen von freien Lymphozyten und Mastzellen, die in das Epithel vordringen können. Grundsätzlich wird in der Lamina propria mucosa und Tela submucosa des gesamten Darms das Vorkommen von Abwehrzellen als GALT (Gut-associated-lymphoid-tissue) beschrieben (JACOBSON 2007). Dies ist Zeichen eines stetig aktiven immunzellulären Abwehrsystems im gesamten Darm von Reptilien. Die von REIS und LYONS (1943) beschriebenen und bei den hier vorgelegten Untersuchungen ebenfalls vorgefundenen lymphozytären Ansammlungen sind aufgrund der geringen Schichtdicke der Lamina propria mucosae besonders stark in der Tela submucosa ausgeprägt. Von REIS und LYONS (1943) beschriebene „Lymphknoten“ können bei den eigenen Untersuchungen nicht vorgefunden werden, es ist davon auszugehen, daß die Autoren Ansammlungen lymphatischer Zellen als regelrechte „Lymphknoten“ beschrieben. Auffallend ist in der Tela submucosa einiger Individuen das starke Vorkommen heterophiler Granulozyten. Diese entsprechen den neutrophilen Granulozyten der Säugetiere; ihre Aufgabe besteht in Phagozytose und mikrobizider Aktivität. Ein vermehrtes Auftreten von heterophilen Granulozyten ist bei inflammatorischen Prozessen zu beobachten (MATEO et al. 1984, MONTALI 1988). Wie die parasitär oder auch nicht spezifisch induzierten eosinophilen Granulozyten unterliegt ihre Vorkommensdichte saisonalen (DUGUY, 1970) und sogar innerartlichen Schwankungen (ALLEMANN et al. 1999). Da sich das Darmepithel bei vorliegenden Untersuchungen noch vollständig intakt zeigt, ist hier bei den betroffenen Tieren von einer nur leichten, beginnenden Enteritis zu sprechen.

Die des Weiteren vorgefundene histologische Schichtung des Darms entspricht der des Magens, wobei wie im Magen eine sehr dichte Lagerung kollagener Fasern in der Tela submucosa hohe Stabilität verleiht. Entgegen den Beobachtungen von REIS und LYONS (1943) zeigt sich bei den hier beschriebenen Untersuchungen eine Lamina muscularis mucosae. Diese ist jedoch sehr dünn ausgebildet, was erklären könnte, dass diese in den nur zwei von REIS und LYONS (1943) untersuchten Tieren nicht beschrieben, bzw. gefunden wurde. Die Tunica muscularis stellt sich wie im Darm sehr ausgeprägt dar, sie

unterliegt keinen fütterungsabhängigen Größenschwankungen (STARCK und BEESE 2001).

8.2.1.4. Dickdarm

Generell ist der Dickdarm weiträumiger als der Dünndarm. Er ist, wie für karnivore Reptilienarten typisch, relativ kurz (JACOBSON 2007). Die wesentliche Aufgabe der Dickdarmschleimhaut ist die Resorption von Wasser und Elektrolyten im Austausch gegen Kalium und Bikarbonat, zudem bewirkt sie die Eindickung des Darminhaltes (LIEBICH 1999). Durch Schleimproduktion der Becherzellen fördert sie den Transport des Darminhaltes zur Kloake, was große Wichtigkeit besitzt, da Chitin, Keratin und teilweise Knochen nicht im Magen zersetzt werden (BAUCHOT 1998).

Da der Dickdarm nicht auf eine große Absorptionsfläche angewiesen ist, sind die Falten der Schleimhaut deutlich flacher und breiter als im Dünndarm. Ein Anstieg der Becherzellzahl im kraniokaudalen Organverlauf ist zu beobachten und deutet auf die erhöhte Schleimproduktion vor der Kloake hin (ROHEN und LÜTJEN-DRECOLL 1996). Dabei entsprechen Morphologie und Schleimqualität der Becherzellen des Dickdarms der für den Dünndarm beschriebenen.

Wie ebenfalls für den Dünndarm beschrieben, befinden sich in der Lamina propria mucosae und der Tela submucosa, sowie vereinzelt intraepithelial Abwehrzellen des GALT (Gut-associated-lymphatic-tissue). Ein verstärktes Vorkommen von lymphatischen Zellen ist in der Tela submucosa vereinzelt vorfindbar, was in der Funktion den Lymphknoten höherer Säugetiere entspricht. Entsprechend der hohen mechanischen Belastung ist bei den Präparaten eine hohe Dichte der kollagenen Fasern der Tela submucosa, sowie eine stärker als im Dünndarm vorkommende Tunica muscularis vorhanden.

8.3 Zusammenfassende Analyse des enterischen Nervensystems

Das enterische Nervensystem der Schlangen ist wenig untersucht. Das Augenmerk bisheriger Untersuchungen galt hauptsächlich dem Zentralnervensystem und den Sinnesorganen. Bisherige Untersuchungen des enterischen Nervensystems sind nur punktuell und fragmentarisch (REIS und LYONS 1943, ARVY and BONICHON 1958a, 1958b, RUIZ et al. 1993, FERRI 1974) beschrieben.

Generell werden bei eigenen Untersuchungen licht- und elektronenmikroskopisch Ansammlungen markloser Nervenfasern in allen histologischen Schichten mit Ausnahme

des Epithels vorgefunden. Da keine markhaltigen Nervenfasern vorgefunden werden, scheint das enterische Nervensystem durch marklose Nervenfasern gebildet zu werden.

Sehr große, auch lichtmikroskopisch sichtbare Nervenplexus, befinden sich, wie von einigen Autoren fragmentarisch beschrieben (TÖRÖ 1930, REIS und LYONS 1943, LUPPA 1977), in der Tela submucosa und zwischen den Schichten der Tunica muscularis von Magen, Dünndarm und Dickdarm. Damit entsprechen sie den für Menschen und höhere Säugetiere benannten Auerbach- und Meissner- Plexus (LIEBICH 1999, ROHEN und LÜTJEN-DRECOLL 1996, JUNQUEIRA und CARNEIRO 2005), die das autonome Nervensystem des Darms bilden. Im elektronenmikroskopischen Bild zeigte clear – und dense core vesicle sind Träger von Neurotransmittern.

Die Becherzellen des Verdauungstraktes sowie die Zellen der Magendrüsen weisen eine Nervenversorgung auf, die unterhalb der Becherzellen in der Lamina propria mucosae lokalisiert ist.

Bei weiterführenden Versuchen unter Verwendung des NADPH-Diaphorase stainings wird gezeigt, daß ein Neurotransmitter dieser und der anderen für Ösophagus und Gastrointestinaltrakt vorgefundenen neuronalen Gewebe Stickstoffmonoxyd (NO) ist, wobei es sich hier höchstwahrscheinlich um durch die neuronale Isoform NOS-1 generiertes NO handelt. Im peripheren Nervensystem ist NO inhibitorischer Transmitter von NANC (non-adrenerg-non-cholinerg) Neuronen, die die dritte Komponente des peripheren autonomen Nervensystems stellen. NANC-Neurone wurden im respiratorischen Apparat und im kardiovaskulären Gewebe des Menschen und anderer Vertebraten nachgewiesen (BURNSTOCK 1986). In Ösophagus und Gastrointestinaltrakt sind sie im Wesentlichen an der Regulation der Motorik beteiligt (MARTINSON et al. 1965a, 1965b, BULT et al. 1990, ALLESCHER et al. 1992, SIFRIM et al. 1992, VANDERWINDEN et al. 1993, SAND et al. 1997).

Mittels der hier vorgestellten Ergebnisse kann ein Vorkommen von NANC-Neuronen im Gastrointestinaltrakt bei *Thamnophis sirtalis sirtalis* dokumentiert werden. Die Lokalisation entspricht, wie bereits beschrieben, den licht- und elektronenmikroskopisch nachgewiesenen neuronalen Strukturen, sowie den mittels immunhistochemischer Methoden lokalisierten Neurofilamenten, die auch in den Muskelschichten der Lamina muscularis mucosae und der Tunica muscularis exprimiert werden. Diese Daten decken sich mit den Beobachtungen von WEHRENFENNIG (2002) am Magendarmtrakt von *Trachemys scripta elegans*, sowie von OLSSON und GIBBONS (1999) am Gastrointestinaltrakt von *Crocodylus porosus*. ARVY und BONICHON (1958b) konnten zudem cholinerge Nervenzellen und -fasern in den genannten Muskelschichten nachweisen. Nach Erkenntnissen von BRÜNING et al. (1994) bedarf es allerdings noch

einer weiteren Verifizierung der NO-Existenz durch spezifische Antikörper gegen die verschiedenen NOS-Isoformen. Es ist zudem zu bemerken, daß das NADPH-Diaphorase staining im Gegensatz zu eNOS und iNOS für nNOS keine Quantifizierung der Enzymaktivität ermöglicht und somit keinen Indikator für das Maß der Enzymaktivität darstellt (MATSUMOTO et al. 1993, DITTRICH 2006). Auch LI und FURNESS (1993) konnten eine Divergenz zwischen der Anzahl NADPH Diaphorase-positiver Strukturen und der verschiedenen NOS-Isoformen an den Neuronen des vagalen Strangs des Plexus myentericus der Regenbogenforelle feststellen.

Untersuchungen an Humanpräparaten weisen eine gewebsabhängig Kolokalisationen von nNOS mit weiteren Neurotransmittern, unter anderem GABA (VANEY und YOUNG 1988), Somatostatin (VINCENT et al. 1983b) und Substanz P (VINCENT et al. 1983a) nach. Für den Magendarmtrakt werden ATP (HOYLE und BURNSTOCK 1986) VIP (LI und RAND 1990, BOECKXSTANS et al. 1992) als kolokalisierte Neurotransmitter von NO für die neuronal induzierte Relaxation des Magendarmtrakts betrachtet. Des Weiteren wird von VINCENT et al. (1986) und VINCENT et al. (1983c) für das ZNS eine Kolokalisation mit Neuropeptid Y (NPY) beschrieben.

In den eigenen Untersuchungen kann eine Aktivität von NPY im Gastrointestinaltrakt nicht gezeigt werden. Dies gilt allerdings auch für eigene Vorversuche an Nebennierengewebe, für das NPY bei Reptilien beschrieben ist (OREZZOLI et al. 1998), so daß für die eigenen Untersuchungen eine mangelnde Kreuzreaktivität der eingesetzten Antikörper angeführt wird.

Ein zweiter auffälliger Befund bei der Untersuchung des enterischen Nervensystems von *Thamnophis sirtalis sirtalis* ist die Expression von HNK-1-Bindungsstellen, welche bei der adulten Schlange noch nicht beschrieben sind.

Als bestimmende Bindungsstelle des HNK-1 Antikörpers im Nervensystem sind Moleküle der neuronalen Ig-Superfamilie, die mehrere Ig-Domänen enthalten (EDELMAAN 1969, HEMPERLEY et al. 1986) und meist Fibronectin (FN III)-Domänen stellen (MAIN et al. 1992), zu nennen. HNK-1 bindend sind hier Mitglieder der Familie der Neurale-Zelladhäsionsmolekül-(NCAM)-Familie (OLSEN 1995, BÜTTNER 2004), die mit ihren Isoformen das HNK-1 Epitop binden können, P0 (TAKEI et al. 1993), PMP-22, Myelin-Assoziierte Glykolipide (MAG) (McGARRY et al. 1983), die L1-Familie (MOOS et al. 1988, CHOU et al., 1986, BÜTTNER 2004) und verschiedene Glykolipide

Zwar beschreiben verschiedene Autoren (KOWITZ et al. 1992, KUIAT et al. 1995, ALLROY et al. 2005) die Expression von L1, bzw. NCAM, auch durch nicht-neuronales Gewebe, sowie im Darm der Maus speziell durch proliferierende epitheliale Darmzellen (THOR et al.

1987), jedoch entspricht das Verteilungsmuster der HNK-1 Expression bei den eigenen Untersuchungen an *Thamnophis sirtalis sirtalis* dem des schon licht- und elektronenmikroskopisch, sowie immunhistochemisch nachgewiesenen neuronalen Gewebes, was die spezifische Bindung an neuronale Strukturen bei dieser Schlangenart unterstreicht. Dieses Ergebnis wird durch weitere Untersuchungen von EPSTEIN et al. (1991), LUIDERS et al. (1992) und PEINAD et al. (2000) bestätigt, die an Vögeln, welche Schlangen phylogenetisch sehr nahe stehen, mittels HNK-1-Antikörpern neurale Strukturen des enterischen Nervensystems nachwiesen. Eine alleinige Bindung an Myelinkomponenten, wie beispielsweise von TAKEI et al. (1993) oder McGARRY et al. (1983) beschrieben, kann aufgrund der elektronenmikroskopisch nicht nachweisbaren myelinisierten Nervenfasern ausgeschlossen werden.

Ein weiterer Unterschied zu der bisher beschriebenen Expression von HNK-1-Bindungsstellen im enterischen Nervensystem ist hier ihre Expression in nicht-embryonalen Altersstadien; bisher wurde eine HNK-1 Expression nur in embryonalen Geweben beschrieben. In diesem Zusammenhang ist zu bemerken, dass die embryonale Herkunft des enterischen Nervensystems noch kontrovers diskutiert wird. Untersuchungen von EPSTEIN et al. (1991) und LUIDERS et al. (1992) lassen vermuten, dass das enterische Nervensystem des Dünndarms beim Säuger aus Neuralleistenzellen hervorgeht, die in den Magen-Darm-Trakt migrieren (SCHÄFER et al. 2003, JUNQUEIRA et al. 2005), während das Nervensystem des Dickdarms anderer, vermutlich splanchnopleural mesodermaler Herkunft ist. Generell konnten aber sowohl EPSTEIN et al. (1991) als auch LUIDERS et al. (1992) mittels HNK-1-Antikörpern Zellen des enterische Nervensystem detektieren. Der Nachweis HNK-1-reaktiver enterischer Nervenzellen gelang LUIDERS et al. (1992) bei Hühnern bereits am embryonalen Tag (ED) 4; um ED 14 konnten Auerbach und Meissner-Plexus gezeigt werden (PEINAD et al. 2000, LUIDERS et al. 1992). Untersuchungen von PETERS-VAN DER SANDEN et al. (1993) an Wachteln und Hühnern zeigen jedoch, dass die HNK-1-Immunreaktivität mit der Ausdifferenzierung von enterischen Neuronen und Ganglien verschwindet. Auch bei anderen Tier- und Gewebearten wird eine zeitlich stark begrenzte HNK-1-Immunreaktivität bzw. Epitopexpression während der Embryonalphase beschrieben (ANDERSSON 1993, MOSCOSA und SANES 1995, ARNHOLD et al. 2004). Dem entgegen stehen die Ergebnisse der eigenen Untersuchungen des enterischen Nervensystem von *Thamnophis sirtalis sirtalis*, welches eine HNK-1-Expression bei adulten Tieren zeigt. Ein möglicher Erklärungsansatz ist, dass bei dieser Schlangenart einzelne HNK-1-Epitope auch im adulten Alter weiterhin exprimiert werden. Dies konnte beispielsweise von MOSCONA und SANES (1995) für Moleküle der L1-Familie gezeigt

werden, die bei Mäusen bis zum 28. postnatalen Lebenstag L1-exprimierten. Von verschiedenen Autoren (ANDERSSON 1993, GAARDSVOLL 1993, OLSEN 1995) wird eine NCAM-Expression in der Muskulatur von Ratten bis in das adulte Lebensalter beschrieben. Das von OLSEN (1993) beschriebene polysialysierte NCAM scheint dort eine Funktion in der neuronalen Regeneration nach Denervation zu haben. Dieser einschränkenden Funktion steht das Expressionsmuster der HNK-1-Reaktivität bei *Thamnophis sirtalis sirtalis* entgegen, was sich bei allen Tieren zeigt und sich zudem auch auf alle Strukturen des enterischen Nervensystems und nicht nur auf die Muskulatur erstreckt. ANDERSSON (1993) beschreibt für Skelettmuskulatur von Ratten einen Rückgang der NCAM-Expression bei juvenilen und einen Anstieg bei adulten Tieren, was auf einen Zyklus von Denervierung und Innervierung zurückgeführt werden kann (WERNIG und DORLÖCHTER, 1989).

Ein zweiter Erklärungsansatz für die HNK-1 Expression im enterischen Nervensystem der adulten Schlange ist demzufolge eine permanente Zellmigration bzw. Regeneration neuraler Zellen des enterischen Nervensystems; dies ist jedoch unter energetisch-physiologischen Aspekten eher als fragwürdig anzusehen, da Schlangen als poikilotherme Tiere im Gegensatz zu Säugetieren einer anderen Stoffwechselanpassung und somit einer anderen energetischen Situation unterliegen.

Zusammenfassend sind die eigenen Untersuchungen am enterischen Nervensystem von *Thamnophis sirtalis sirtalis* als Grundlage für weitere Forschungen zur Regulation des autonomen peripheren Nervensystems des Gastrointestinaltrakts von Schlangen zu betrachten.

8.4 Weitere Erkenntnisse des NADPH-Diaphorase-Stainings

Die unter NADPH-Diaphorase Staining positive Reaktion der Endothelien und Kapillaren ist auf eNOS generiertes NO zurückzuführen. Diese Isoform der NOS liegt in Endothelien dauerhaft exprimiert vor und fungiert neben Einflussnahme auf Angiogenese und Thrombozytenadhäsion als Regulator der Endothelpermeabilität (FEELISCH et al. 1987, GEWALTIG und KOJDA 2002). Die unregelmäßige Verteilung der NO-Synthase in den verschiedenen Gefäßen, wie beschrieben hier stärker die Gefäße zwischen den Drüsenhalszellen des Magens, spricht für eine unterschiedlich starke Regulation der Gefäße des Gastrointestinaltrakts von *Thamnophis sirtalis sirtalis* durch NO. Zu bemerken ist, daß auch Kapillare dieser Regulation zu unterliegen scheinen (ARNHOLD 1996). Die positive Farbstoffreaktion der Mastzellen kann, wie von ARNHOLD (1996) angenommen, mit einer

unspezifischen Reaktion zur Umwandlung des Nitroblue-Tetrazoliums zu Monoformazan erklärt werden. Die bläulichen Präzipitatablagerungen an der luminalen Seite des Darm-Endothels sind auf bakterielle Lipopolysaccharide zurückzuführen (DITTRICH 2006).

8.5 Schlussfolgerung

Schlussfolgernd kann herausgestellt werden, dass der grundsätzliche histologische Aufbau des Magen-Darm-Traktes von *Thamnophis sirtalis sirtalis* dem der Säugetiere entspricht, jedoch eine Adaption an die sich vom Säuger unterscheidende Verdauungsphysiologie stattgefunden hat. Dies zeigt sich beispielsweise an der starken Ausprägung von Becherzellen im Ösophagus von *Thamnophis sirtalis sirtalis*, dem starken Zilienbesatz der Epithelzellen des Ösophagus, der zweischichtigen Lamina muscularis mucosae des Magens und dem Aufbau der Magendrüsen.

Eine Adaption des Gastrointestinaltrakts an verschiedene Nahrungssituationen kann gezeigt werden, jedoch ist diese Adaption im Vergleich zu den in Kapitel 8 diskutierten Untersuchungen an verschiedenen Schlangenarten schwächer ausgeprägt.

Die Innervation des Gastrointestinaltrakts geschieht mittels unmyelinisierter Nervenfasern, die stellenweise in Form von sehr starken Meissner- oder Auerbach- Plexus ausgebildet sind. An der Regulation der Innervation des enterischen Nervensystems von *Thamnophis sirtalis sirtalis* sind Moleküle der neuralen Ig-Superfamilie, sowie NANC-Neurone beteiligt. HNK-1 bindende Epitope werden entgegen bisher beschriebenen Untersuchungen an Vögeln und Säugetieren bei Schlangen auch in nicht-embryonalen Altersstadien vorgefunden.

9 Zusammenfassung

Die vorgelegte Arbeit beschreibt die spezielle Anatomie und Histologie des Verdauungstrakts von *Thamnophis sirtalis sirtalis* als Prototyp einer aktiv jagenden Schlange.

Hierfür wurden 9 Strumpfbandnattern sezirt und Material für licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen entnommen.

Histologische Übersichtsfärbungen geben Aufschluß über die Ausstattung mit Drüsen und damit über die Verdauungsphysiologie dieser Schlangenart. Weiterhin eingesetzte immunhistochemische Verfahren und elektronenmikroskopische Untersuchungen sollen Aufschluss über die Innervation des Gastrointestinaltrakts geben.

Die makroskopische Anatomie entspricht der in der Literatur beschriebenen.

Die mikroskopische Anatomie zeigt die für Säugetiere typische Wandschichtung, wobei im Magen die Lamina muscularis zweischichtig ist, im Dickdarm hingegen ist sie nur schwach ausgeprägt. Das einschichtige Ösophagusepithel besteht vorwiegend aus Becherzellen und aus zilienbesetzten Epithelzellen. Die Becherzellen zeigen zwei morphologische Ausprägungen, die auf verschiedene Fütterungsstadien zurückzuführen sind.

Das einschichtige, hochprismatische Magenepithel besteht aus Zellen, die eine basale, Alzianblau-PAS-negative Färbung und eine apikale, Alzianblau-PAS positive Schleimzone zeigen. Die Lamina propria besitzt im Fundus- und Pylorusbereich Magendrüsen, die im Fundus aus Drüsenhalszellen und Drüsenkörper, im Pylorus nur aus Drüsenhalszellen bestehen. Unter Alzianblau-PAS kann eine Füllung der Drüsenhalszellen mit sauren Mukopolysacchariden gezeigt werden. Die Drüsenkörper bestehen aus einem einzigen Zelltyp, was für *Colubridae* typisch ist. Die Muskelschichten des Magens sind deutlich ausgeprägt. In Dünn- und Dickdarm ist, trotz unterschiedlicher Ausprägung von Becherzellen des Ösophagus, ein homogener Epitheltyp mit Mikrovilli-besetztem mehrreihigen Zylinderepithel vorhanden. Hier sind nur wenig Becherzellen vorhanden, deren Anzahl im Organverlauf von kranial nach kaudal ansteigt. Die Lamina muscularis mucosae ist deutlich ausgeprägt, ebenso die Tunica muscularis. Im Dickdarm ist ein weiterer Anstieg der Becherzellzahl im kraniokaudalen Organverlauf zu beobachten. Sowohl im Dünn- als auch im Dickdarm kann eine Zunahme der neutralen Mukopolysaccharide enthaltenden Becherzellen beobachtet werden. Die Lamina muscularis mucosae ist hier schwach und nicht durchgängig ausgeprägt.

Lichtmikroskopisch können Nervengewebe in Form von Auerbach- und Meissner- ähnlichen Plexus vor allem in Magen, Dünndarm und Dickdarm nachgewiesen werden. Elektronenmikroskopisch zeigen sich unmyelinisierte Nervenfasern und -plexus mit

Ausnahme des Epithels in allen histologischen Schichten. In der Lamina propria mucosae sind sie nahe den Becherzellen situiert. Es können deutlich dense core vesicles und clear vesicles als Hinweis für die Synthese von Neurotransmittern aufgezeigt werden. NADPH-diaphorase positive und damit NOS-exprimierende Nervenfasern zeigen sich in allen untersuchten Organen ebenfalls mit Ausnahme des Epithels in allen histologischen Schichten, vor allem über der Muskulatur und den Auerbach- und Meissner-Plexus. Die Endothelzellen der Tela submucosa zeigen ebenfalls Präzipitateinlagerungen, ebenfalls die Kapillare zwischen den Drüsenhalszellen des Magens. HNK-1-Epitope und Neurofilamente können mittels immunhistochemischer Methoden über den Nervenplexus aller Organe, sowie als feine Fasern vereinzelt über allen Muskelschichten, Lamina propria und Tela submucosa gezeigt werden. Im Gegensatz zu beschriebenen Studien an Vögeln und Säugetieren sind HNK-1-Epitope in nicht-embryonalen Altersstadien bzw. in adulten Individuen von *Thamnophis sirtalis sirtalis* zu finden.

10 Summary

Analysis of anatomy and histology of the digestive tract of *Thamnophis sirtalis sirtalis* with special interest on the glands.

The thesis provides a description of the specific anatomy and histology of the digestive tract of *Thamnophis sirtalis sirtalis*, as a prototype for an actively hunting snake.

Nine animals were dissected and material was sampled for light microscopical and electron microscopical purposes. Differential stains provide information about the localisation and characterization of the glands, which shine light on the physiology of the digestive tract of these species. Besides differential stains, immunohistochemical and electron-microscopical methods were applied.

The macroscopical anatomy of *Thamnophis sirtalis sirtalis* do not differ from that described in literature.

The microscopical anatomy of the digestive tract shows a mammal-like layer system. Only the lamina muscularis mucosae of the stomach is double-layered, and the lamina muscularis mucosae of the large intestine is poorly developed. The single-layered epithelium of the oesophagus consists of goblet cells and ciliated columnar cells. The goblet cells show two morphological different shapes, depending on the feeding status.

The single-layered columnar epithelium of the stomach appears with a PAS-positive apical zone. In pylorus and fundus, the Lamina propria mucosae contains gastric glands, which can be divided into main glandular body and neck cells. In the pyloric region, only neck cells

are found. In both parts of the stomach, the Alcianblue-PAS stain reveals the production of PAS-positive mucus in the neck cells. The main gastric body is made up of only one cell type, which is the characteristic of *Colubridae* and differs in other species. The oesophageal muscle layers and those of the stomach are very pronounced.

The small intestine exhibits a pseudostratified columnar epithelium with prominent microvilli, which are also found in the large intestine. Only some goblet cells are found in the cranial part of the small intestine, but their number increases towards the middle and caudal part. An even greater increase of the number of goblet cells is measured in the large intestine. Moreover, both in the small and the large intestine, the number of goblet cells producing neutral mucopolysaccharids increases. The lamina muscularis mucosae is only distinct in the large intestine.

Light-microscopical analyses reveals the existence of neuro tissue in terms of plexus myentericus submucosus and subserosus, prominent mainly in oesophagus and the intestines. Further electron microscopic studies show the appearance of unmyelinated nerve fibres and– plexus in all layers, only with exception of the epithelium. In the lamina propria mucosae, these structures are situated close to the goblet cells.

The existence of dense core vesicles and clear vesicles indicate the synthesis of neurotransmitters. NOS-expressing neuro tissue is found in all layers (except the epithelium), particularly in the muscle layers and the plexus. Furthermore, precipitates are detected in the endothelial tissue of the tela submucosa and the capillaries between the neck cells of the gastric glands. Immunohistochemical analyses present the existence of HNK-1-epitopes and neurofilaments in the plexus of all parts of the digestive tract, furthermore, a mesh of fine nerve fibres in the lamina propria mucosae, tela submucosa and all muscle layers of the digestive tract of *Thamnophis sirtalis sirtalis*. In contrast to former studies on vertebrates and birds, HNK-1-epitopes can be found in adult garter snakes.

11 Literatur

- ABO, T. und BALCH, C.M. (1981): A differentiation antigen of human NK and K cells identified by a monoclonal antibody (HNK-1). *J Immunol* 127:1024-9.
- ALLEMANN, A.R. JACOBSON, E.R., RASKIN, R.E. (1999): Morphologic, cytochemical staining and ultrastructural characteristics of blood from eastern diamondback rattlesnake (*Crotalus adamanteus*). *Am. J. Vet. Res.* 60:507-514
- ALLESCHER, H.D., LU, S., DANIEL, E.E., CLASSEN, M. (1992): Nitric oxide as a putative nonadrenergic noncholinergic inhibitory transmitter in the canine pylorus in vivo *Am J Physiol* 262:G695-702
- ALLROY, Y., MATSUOKA, Y., BAZILLE, C., CHRISTENSEN, E., RONCO, P., DEBIEC, H. (2005): The L1 cell adhesion molecule is induced in renal cancer cells and correlates with metastasis in clear cell carcinomas. *Clin Cancer Res* 11:1190-1197
- ANDERSSON, A.M., OLSEN, M., ZHERNOSEKOV, D., GAARDSVOLL, H., KROG, L., LINNEMANN, D., BOCK, E. (1993): Age-related changes in expression of the neural cell adhesion molecule in skeletal muscle: a comparative study of newborn, adult and aged rats. *Biochem. J.* 290:641-8
- ARNHOLD, S., WHEN, M., LABBE, D., ANDRESSEN, C. und ADDICKS, K. (2004): Transient expression of NOS-II during development of the murine enteric nervous system. *Journal of Molecular Histology* 35:1–8
- ARNHOLD, S. (1996): Der Einfluß von Stickstoffmonoxid auf die mikrovaskuläre Permeabilität des Rattenmesenteriums. Gießen, Univ., Diss.
- ARNOLD, S.J. (1980): The microevolution of feeding behaviour. In: Kamil, A. und Sargent, T. (Hrsg.): *Foraging Ecology: Ecological, Ethological and Psychological Approaches*. Garland Press: 455 New York
- ARVY, L. und BONICHON, A. (1958a): Contribution à l'étude des ésterases du tube digestif chez *Crocodylus niloticus* Laurenti. *C.R. Ass. Anat.* 45:112-121
- ARVY, L. und BONICHON, A. (1958b): Contribution à l'histoenzymologie de *Crocodylus niloticus* Laurenti. *Z. Zellforsch.* 48:519-535
- BADEER, H.S. (1998): Anatomical position of heart in snakes with vertical orientation: a new hypothesis. *Comp. Biochem. Physiol. A Mol Integr Physiol* 119 A:403-5
- BAECKER, R. (1934): Die oxyphilen (Panethschen) Körnchenzellen im Darmepithel der Wirbeltiere. *Erg. Anat.* 31:708-755
- BAUCHOT, R. (1998): Anatomie und Physiologie. In: Bauchot, R. (Hrsg.): *Schlangen*, Weltbild Verlag GmbH, Augsburg
- BELLAIRS, A. (1969): *The life of reptiles*. Weidenfield and Nicolson, London
- BOURNE, J.A. (1989): *Handbuch der Immunperoxidase Färbemethoden*. Immunochimistry Laboratory DAKO Corporation

BOECKXSTANS, G.E., HOLLMANN, M., HEISTERKAMP, S.H., ROBBERECHT, P., DE JONGE, W.J., VAN DEN WIJNGAARD, R.M.J.G.J., TYTGAT, G.N.J., BLOMMAART, P.J.E. (1991): Evidence for VIP₁/PACAP receptors in the afferent pathway mediating surgery-induced fundic relaxation in the rat. *Br. J. Pharmacol.* 131: 705–710

BRONNER-FRASER, M. (1986): Analysis of the early stages of trunk neural crest migration in avian embryos using monoclonal antibody HNK-1. *Dev Biol.* 115:44-55

BRÜMMENDORF, T., KENWRICK, S., RATHJEN, F.G. (1998): Neural cell recognition molecule L1: from cell biology to human hereditary brain malformations. *Curr Opin Neurobiol* 8:89-97

BRÜNING, G., Wiese, S., Mayer, B. (1994): Nitric oxide synthase in the central nervous system of the turtle, *Trachemys scripta elegans*. *J Comp Neurol* 348:183-206.

BÜTTNER, B. (2004): Die Rolle der cytoplasmatischen Domänen des neuronalen Zell-adhäsionsmoleküls im Neuritenwachstum und Identifizierung neuer intrazellulärer Bindungspartner. Diss. FU Berlin

BULT, H., BOECKXSTAENS, G.E., PELCKMANN, P.A., JORDAENS, F.H., VAN MAERCKE, Y.M., und HERMAN, A.G. (1990): Nitric oxide as an inhibitory non-adrenergic non-cholinergic neurotransmitter. *Nature* 345:346-347

BURGHARDT, G.M. und PRUITT, C.H. (1975): Role of the tongue and senses in feeding of naive and experienced garter snakes. *Physiol. Behav.* 14:185 - 94

BURGHARDT, G.M. und CHMURA, P.J. (1993): Strike-induced chemosensory searching by ingestive naïve garter snakes (*Thamnophis sirtalis*). *Copeia*, 1993:1-6

BURKE, T (1978): Reptiles (Reptilia). in: FOWLER, M.E. *Zoo and Wild Animal Medicine* W.B. Saunders Company, Philadelphia, London, Toronto

BURNSTOCK, G. (1986): The non-adrenergic non-cholinergic nervous system. *Arch Int Pharmacodyn Ther.* 280:1-15

CANNING, D.R. und STERN, C.D. (1988): Changes in the expression of the carbohydrate epitope HNK-1 associated with mesoderm induction on the chick embryo. *Development* 104: 643-655

CHIODINI, R.J., SUNDBERG, J.P., CZIKOWSKY J.A. (1982): Gross anatomy of snakes. *Vet Med. Small. Anim. Clin.* 1982 3:413 - 419

CHOU, D.K., ILYAS, A.A., EVANS, J.E., COSTELLO, C., QUARLES, R.H., JUNGALWALA, F.B. (1986): Structure of sulfated glucuronyl glycolipids in the nervous system reacting with HNK-1 antibody and some IgM paraproteins in neuropathy. *J Biol Chem* 261:11717-11725

COSTANZO J.P. (1985): The bioenergetics of hibernation in the eastern garter snake *Thamnophis sirtalis sirtalis*. *Physiological Zoology* 58:682-692.

DAVIES, P.M.C. (1981): Anatomy and physiology. In: Cooper, J.E. und Jackson, O.F. (Hrsg.): *Diseases of the reptilia*. Academic press, London, New York Band 1

- DAWSON, T., BREDT, D.S., FOTUHI, M., HWANG, P.M., SNYDER, S.H. (1991): Nitric oxide synthase and neuronal NADPH diaphorase are identical in brain and peripheral tissues. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88:7797-7801
- DEBUS, E., WEBER, K., OSBORN, M. (1983): Monoclonal antibodies specific for glial fibrillary acidic (GFA) protein and for each of the neurofilament triplet polypeptides. *Differentiation* 5(2):193-203
- DENNIS, R.D., ANTONICEK, H., WIEGANDT, H. und SCHACHNER, M. (1988): Detection of the L2/HNK-1 carbohydrate epitope on glycoproteins and acidic glycolipids of the insect *Calliphora vicina*. *J. Neurochem.* 51:1490-1496
- DITTRICH, M. (2006): Ischämie am Kardiomyozyten. Bedeutung für die e-NOS-Expression sowie deren Nachweismethoden und Wertung verschiedener Möglichkeiten einer Kardioprotektion. Köln, Univ., Diss.
- DUELLMAN, W.E. und TRUEB, L. (1986): *Biology of Amphibians*. McGraw-Hill Book Comp.: 670 S. New York, St. Louis, San Francisco
- DUGUY, R. (1970): Numbers of blood cells and their variations. In: Gans, C. (Hrsg): *Biology of the Reptilia*, Vol. 3, Academic Press, London and New York 93-109
- EBERLE, A. (2007): Untersuchungen zur Körperzusammensetzung von Schlangen. LMU München Diss.
- EDELMAN, G.M. (1969): The covalent structure of an entire gamma G immunoglobulin molecule. *Proc Nat Acad Sci USA* 63:78-85
- EDELMAN, G.M. (1985): Cell adhesion and the molecular processes of morphogenesis. *Ann. Rev. Biochem.*, 54:135-169
- ENGELMANN, W.E. und OBST, F.J. (1981): *Mit gespaltener Zunge*. Herder Verlag, Freiburg im Breisgau
- EPSTEIN, M.L., POULSEN, K.T., THIBOLDEAUX, R. (1991): Formation of the ganglia in the gut of the chick embryo. *J. Comp. Neurol.* 307:189-199
- EULENBERGER, K. (2006): Fütterungskunde. In: Engelmann, W.E. (Hrsg): *Zootierhaltung. Reptilien und Amphibien*. Wissenschaftlicher Verlag Harri Deutsch, Frankfurt am Main
- FAISSNER, A. (1987): Monoclonal antibody detects carbohydrate microheterogeneity on the murine cell adhesion molecule L1. *Neurosci. Lett.* 83:327-323
- FEELISCH, M. und NOACK, E.A. (1987): Nitric oxide (NO) formation from nitrovasodilators occurs independently of hemoglobin or non-heme iron. *Eur. J. Pharmacol.* 142:465-469
- FERRI, S. (1971): Contribucao ao estudio morfológico e histoquimico de esofago, estomago e intestinos de *Xenodon meremii* (Wagler, 1824), Ophidia. Thèse para obtenção do titulo de livre Docente. Sao Paulo (dactylogr., 1971)
- FLOOD, J.F., BAKER, M.L., HERNANDEZ, E.N., MORLEY, J.E. (1989): Modulation of memory processing by neuropeptide Y varies with brain injection site. *Brain Res* 503: 73-82

- FORD, N.B. und SEIGEL, R.A. (1989): Phenotypic plasticity in reproductive traits: evidence from a viviparous snake. *Ibid.* 70: 1768-1774
- FOX (1956): Seminal receptacles of snakes. *Anat. Rec.* 124:519 - 539
- FRY B.G. und WÜSTER W.G. (2004): Assembling an arsenal origin and evolution of the snake venom proteome inferred from phylogenetic analysis of toxin sequences. *Mol. Biol. Evol.* 21 :875 - 883
- FRY B.G. (2003): Analysis of Colubroidea snake venoms by liquid chromatography with mass spectrometry evolutionary and toxinological implications. *Rapid Commun. Mass Spectrom* 17: 2047 - 2062
- FRYE, F. L. (1973): Husbandry, Medicine and Surgery in Captive Reptiles. VM Publishing, Kansas
- FRYE, F. L. (1981): Biomedical and surgical aspects of captive reptile husbandry. VM Publishing, Kansas
- FUNKE, S. (2005): Der Einfluss von Neuropeptid Y auf die Glukoseaufnahme im dorsalen Tectum opticum während visueller Stimulation der Unke *Bombina orientalis*: Quantitative Analyse mit Hilfe der 14 C-2-Desoxiglukose-Technik. Diss. Uni Kassel
- FURTINGER, S., PIRKER, S., CZECH, T., BAUMGARTNER, C., RANSMAYR, G. und SPERK, G. (2001): Plasticity of Y1 and Y2 receptors and Neuropeptide Y fibers in patients with temporal lobe epilepsy. *J Neurosci* 21: 5804-5812
- GAARDSVOLL, H., KROG, L., ZHERENOSKOV, D., ANDERSSON, A.M., EDVARDSEN, K., OLSEN, M., BOCK, E., LINNEMANN, D. (1993) : Age-related changes in expression of neural cell adhesion molecule (NCAM) in heart : a comparative study of newborn, adult and aged rats. *Eur. J. Cell. Biol.* 61:100-7
- GABE, M. und SAINT GIRONS, H. (1965): Contribution à l'histologie du *Sphenodon punctatus* Gray. Éditions du Centre National de la Recherche Scientifique, Paris
Zitiert in: LUPPA, H. (1977): Histology of the digestive tract. In: Gans, C. (Hrsg): Biology of the Reptilia, Vol. 6, Academic Press, London and New York
- GABE, M. und SAINT GIRONS, H. (1972): Contribution à l'histologie de l'estomac des lépidosauriens (Reptiles). *Zool. Jb.* 89, 579-599
Zitiert in: LUPPA, H. (1977): Histology of the digestive tract. In: Gans, C. (Hrsg): Biology of the Reptilia, Vol. 6, Academic Press, London and New York
- GANS, C. (1961): The feeding mechanism of snakes and its possible evolution. *American Zoologist* 1:217-227
- GASC, J.-P. (1998): Beutefang und Ernährung. In: Bauchot, R. (Hrsg.): Schlangen, Weltbild Verlag GmbH, Augsburg
- GEFFENEY, S.L. et al. (2005): Evolutionary diversification of TTX-resistant sodium channels in a predator-prey interaction. *Nature* 434:759 – 763 (2005)
- GEGENBAUR, C. (1901): Vergleichende Anatomie der Wirbelthiere mit Berücksichtigung der Wirbellosen. Engelmann, Leipzig

- GEWALTIG, M.T. und KOJDA, G. (2002): Vasoprotection by nitric oxide: mechanisms and therapeutic potential. *Cardiovasc. Res.* 55: 250-260
- GOLDNER, J. (1938): A modification of the Masson trichrome technique for routine laboratory purpose. *Amer J Pathol* 14: 237-243
- GREGORY, P und LARSEN, K. (1993): Geographic variation in reproductive characteristics among canadian populations of the common garter snake (*Thamnophis sirtalis*). *Copeia* 4: 946-958
- HÄFELI, W. und SCHILDGER, B. J. (1995): Reptilien. In: Göltenboth, R. und Klös, H. G. (Hrsg.) *Krankheiten der Zoo- und Wildtiere*. Blackwell Wissenschafts-Verlag, Berlin
- HALPERN, M. (1992): Nasal chemical senses in reptiles: Structure and function. In: Gans, C. und Crews, D. (Hrsg.): *Biology of the Reptilia Univ.* Chicago Press: 624 S. Chicago
- HALL, A.C., EARLE-CRUIKSHANKS, G., HARRINGTON, M.E. (1999): Role of membrane conductances and protein synthesis in subjective day phase advances of the hamster circadian clock by neuropeptide Y. *Eur J Neurosci* 11: 3424-3432
- HALLMEN, M. and CHLEBOWY, J. (2001): *Strumpfbandnattern*. Natur und Tier-Verlag, Münster
- HAMILTON, W.J. JR. (1951): The food and feeding behaviour of the garter snake in New York State. *American Midland Naturalist* 46:385-390.
- HAMMER, J.A. et al. (1993): Immunoreactivity of PMP-22, P0, and other 19 to 28 kDa glycoproteins in peripheral nerve myelin of mammals and fish with HNK1 and related antibodies. *J Neurosci Res.* 35:546-58.
- HAYES, W.K. und HAYES, F.E. (1985): Human envenomation from the bite of the eastern garter snake *Thamnophis s. sirtalis* (Serpentes: Colubridae). *Toxicon* 23: 719-21
- HEDIGER, H. (2000): Schlangen. In: Grzimek (Hrsg.): *Enzyklopädie des Tierreichs*. Band 6 Weltbild Verlag, Augsburg 346-362
- HEMPERLY, J.J., EDELMAN, G.M., CUNNINGHAM, B.A. (1986): cDNA clones of the neural cell adhesion molecule (N-CAM) lacking a membrane-spanning region consistent with evidence for membrane attachment via a phosphatidylinositol intermediate. *Proc Natl Acad Sci USA* 83:9822-26
- HIRANO, K. (1926a): Über die Bedeutung und das Wesen der Altmannschen Granula in den Magendarmschleimhäuten der Wirbeltiere. 1. Mitt. Phylogenetische Bedeutung der Altmannschen Granula. *Nikon Biseitbutsu Gakkwei Zasshi* 20,9
- HIRANO, K. (1926b): Über die Bedeutung und das Wesen der Altmannschen Granula in den Magendarmschleimhäuten der Wirbeltiere. 7. Mitt. Die Bedeutung und das Wesen der Altmannschen Granula. *Nikon Biseitbutsu Gakkwei Zasshi* 20,11
- HOFFMANN, S. und EDELMAN, G.M. (1987): A proteoglycan with HNK-1 antigenic determinants is a neuron-associated ligand for cytotoxicity. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 84:2523-2527

- HOPE, B.T., MICHAEL, G.J., KNIGGE, K.M., VINCENT, S.R. (1991): Neuronal NADPH diaphorase is a nitric oxide synthase. *Proc Natl Acad Sci* 88:2811-4.
- HOYLE, C.H. und BURNSTOCK, G. (1986): Evidence that ATP is a neurotransmitter in the frog heart. *Eur J Pharmacol* 124:285-9.
- HUAROTO LEVY, J.I. (2004): Evaluation einer selbsteinrollenden Chitosanfolie zum Überbrücken peripherer Nervendefekte. Diss. Tierärztl. Hochsch. Hannover
- INUI, A. (1999): Feeding and body-weight regulation by hypothalamic neuropeptides – mediation of the actions of leptin. *Trends Neurosci* 22:62-67
- IPPEN, R., SCHRÖDER H.-D. und ELZE, K. (1985): Handbuch der Zootierkrankheiten, Band 1, Reptilien, Akademie-Verlag, Berlin
- JACOBSON, E. R. (2007): Infectious diseases and pathology of reptiles. CRC Press, Taylor and Francis Group, Boca Raton, London, New York
- JANSEN D.W. und FOEHRING R. C. (1983): The mechanism of venom secretion from Duvernoy's gland of the snake *Thamnophis sirtalis*. *J. Morph.* 175: 271 - 277
- JANSEN, D.W. (1983): A possible function of the secretion of Duvernoy's gland. *Copeia* 1: 262-264
- JAROFKE, D. und LANGE, J. (1993): Schlangen in: Reptilien - Krankheiten und Haltung, Tierärztliche Heimtierpraxis 3, Parey Berlin, Hamburg
- JEKSAJEWA, W.A. (1958a): Über den histochemischen Bau des Ösophagus einiger Kaltblütler. *Dokl. Akad. nauk SSSR* 118:181-184
- JEKSAJEWA, W.A. (1958b): The histological structure of the esophagus of certain coldblooded vertebrates. *Dokl. Akad. nauk SSSR, Biol. Sci.* 48, 42-46
- JUNQUEIRA, L.C., CARNEIRO, J., GRATZL, M. (2005): Histologie. Springer Medizin Verlag, Heidelberg
- KALRA, S.P., FUENTES, M., FOURNIER, A., PARKER, S.L., CROWLEY, W.R. (1992): Involvement of the Y-1 receptor subtype in the regulation of luteinizing hormone secretion by neuropeptide Y in rats. *Endocrinology* 130: 3323-3330
- KARDONG, K.V. (1980): Evolutionary Patterns in Advanced Snakes. *American Zoologist* 1980 20::269-282
- KARDONG, K.V. (1996): Snake Toxins and Venoms: An Evolutionary Perspective. *Herpetologica*, 52: 36-46
- KARDONG, K.V. (2002): Colubrid snakes and duvernoy's venom glands. *Toxin Reviews* 21: 1-19
- KARDONG, K.V. und LUCHTEL, D.L. (1986): Ultrastructure of duvernoy's gland from the wandering garter snake, *Thamnophis elegans vagrans* (Serpentes, Colubridae). *J Morph* 188: 1-13

- KEIL, R. (1990): Beitrag zur Organtopographie und den wesentlichen Erkrankungen bei ungiftigen Schlangen der Familie Boidae, Colubridae und Xenopeltidae. Hannover, tierärztl. Hochsch., Diss
- KEILHAUER, G., FAISSNER, A. und SCHACHNER, M. (1985): Differential inhibition of neuron-neuron, neuron-astrocyte and astrocyte-astrocyte adhesion by L1, L2, and N-CAM antibodies. *Nature* 316:728-730
- KIECHLE, F.L. und MALINSKI, T. (1993): Nitric oxide. Biochemistry, pathophysiology and detection. *Am J Clin Pathol* 100:567-575
- KLÜCK, P. VAN MUIJEN, G., VAN DER KAMP, A. (1984): Hirschsprung's disease studied with monoclonal antineurofilament antibodies on tissue sections. *Lancet*. 1:652-4
- KOCHVA, E. (1965): The development of the venom gland in the opisthoglyph snake *Telescopus fallax* with remarks on *Thamnophis sirtalis* (Colubridae, Reptilia). *Copeia* 1965: 147-154
- KÖLLE, P. (2003): Schlangen Inappetenz. *Kleintier konkret*, 6:12-15
- KOWITZ, A., KADMON, G., ECKERT, M., SCHIRRMACHER, V., SCHACHNER, M., ALTEVOGT, P. (1992): Expression and function of the neural cell adhesion molecule L1 in mouse leukocytes. *Eur J Immunol* 22:1199-1205
- KOWITZ, A., KADMON, G., VERSCHUEREN, H., REMELS, L., DE BAETSELIER, P., HUBBE, M., SCHACHNER, M., SCHIRRMACHER, V., ALTEVOGT, P. (1993): Expression of L1 cell adhesion molecule is associated with lymphoma growth and metastasis. *Clin Exp Metastasis* 11:419-429
- KRANENBURG, W. R. H. (1901): Sur les cellules des glandes de l'estomac qui sécrètent de l'acide chlorhydrique et les celles qui sécrètent de la pepsine. *Arch. Teyler (Haarlem)*, II : 7IV, 65
- KRAUSE, R. (1922) : Mikroskopische Anatomie der Wirbeltiere in Einzeldarstellungen (2) : 317-404 Walter de Gruyter, Berlin, Leipzig
- KRUSE, J., MAILHAMMER, R., WERNECKE, H., FAISSNER, A., SOMMER, I., GORIDIS, C. und SCHACHNER, M. (1984): Neural cell adhesion molecules and myelin-associated glycoprotein share a common carbohydrate moiety recognized by monoclonal antibodies L2 and HNK-1. *Nature* 311: 153-155
- KÜNEMUND, V., JUNGALWALA, F.B., FISHER, G., CHOU, D.K.H., KEILHAUER, G., and SCHACHNER, M. (1987): The L2/HNK-1 carbohydrate of neural cell adhesion molecules is involved in cell interactions. *J. Cell. Biol.* 106:213-223
- KUJAT, R., MIRGALL, F., KRAUSE, D., DERMETZEL, R., WROBEL, K.H. (1995): Immunolocalization of the neural cell adhesion molecule L1 in non-proliferating Epithelial cells of the male urogenital tract. *Histochem Cell Biol* 103:311-321
- LEJA, M. und SCHILDGER, B. J. (1991): Bemerkungen zur Anatomie und Pathologie der Lungen einiger häufig gehaltener Schlangengruppen (Reptilia: Squamata: Serpentes). *DVG*, 4. Internationales Colloquium für Pathologie und Therapie der Reptilien und Amphibien, Bad Nauheim, 273-289

- LETHO, V.P., STENMAN, S., MIETTINEN, M., DAHL, D. und VIRTANEN, I. (1983a): Expression of a neural type of intermediate filament as a distinguishing feature between oat cell carcinoma and other lung cancers. *Am J Pathol* 110:113-118
- LEHTO, V.P., VIRTANEN, I., MIETTINEN, M., DAHL, D., KAHRI, A. (1983b): Neurofilaments in adrenal and extra-adrenal pheochromocytoma. Demonstration using immunofluorescence microscopy. *Arch Pathol Lab Med.* 107:492-4.
- LI, C.G. und RAND, M.J.(1990): Nitric oxide and vasoactive intestinal polypeptide mediate non-adrenergic, non-cholinergic inhibitory transmission to smooth muscle of the rat gastric fundus. *Eur J Pharmac* 191:303-309.
- LI, Z.S. und FURNESS, J. B. (1993b): Nitric oxide synthase in the enteric nervous system of the rainbow trout, *Salmo gairdneri*. *Arch Histol Cytol* 56:185-93
- LIEBICH, H. G. (1999): Funktionelle Histologie der Haussäugetiere: Lehrbuch und Farbatlas für Studium und Praxis. 3. Aufl. Schattauer Verlag, Stuttgart
- LUIDER, T.M., PETERS-VAN DER SANDEN, M.J.H., MOLENAAR, J.C., TIBBOEL, D., VAN DER KAMP, A.W.M. und MEIJERS, C. (1992): Characterization of HNK-1 antigens during the formation of the avian enteric nervous system. *Development*, 115:561-572
- LUPPA, H. (1977): Histology of the digestive tract. In: Gans, C. (Hrsg): *Biology of the Reptilia*, Vol. 6, Academic Press, London and New York 225-315
- LUZ, S. (2002): Adaptive Veränderungen im Verdauungstrakt des Netzpython in Abhängigkeit von der Nahrungsaufnahme. Hannover, tierärztl. Hochsch., Diss
- MAIN, A.L., HARVEY, T.S., BARON, M., BOYD, J., CAMPBELL, I.D. (1992): The three dimensional structure of the tenth type III module of fibronectin: an insight into RGD-mediated interactions. *Cell* 71:671-78
- MARTINI, R. (1994): Expression and functional roles of neural cell surface molecules and extracellular matrix components during development and regeneration of peripheral nerves. *J Neurocytol* 23:1-28
- MARTINSON, J. (1965a): Vagal relaxation of the stomach. Experimental rein-vestigation of the concept of the transmission mechanism. *Acta Physiol Scand.* 64(4):453-62
- MARTINSON, J. (1965b): Studies on the efferent vagal control of the stomach. *Acta Physiol Scand Suppl.* 255:1-24.
- MATEO, M.R., ROBERTS, E.D., ENRIGHT, F.M. (1984) : Morphologic, cytochemical and functional studies of peripheral blood cells of young healthy American Alligators (*Alligator mississippiensis*). *Am. J. Vet. Res.* 45:1046-1053
- MATSUMOTO,T., NAKANE,M., POLLOCK, J.S., KUK, J.E., FORSTERMANN, U. (1993): A correlation between soluble brain nitric oxide synthase and NADPH-diaphorase activity is only seen after exposure of the tissue to fixative. *Neurosci. Lett.* 155:61-64
- MATURI, M., GREENE, R. SPEIR, E. et al: (1989): Neuropeptide Y. A peptide found in human coronary arteries constricts primarily small coronary arteries to produce myocardial ischemia in dogs. *J Clin Invest* 83: 1217-1224

- McGARRY, R.C., HELFAND, S.L., QUARLES, R.H. und RODER, J.C. (1983): Recognition of myelin-associated glycoprotein by the monoclonal antibody HNK-1. *Nature* 1983 Nov 24-30; 306(5941):376-8.
- METCALFE, W.K., MYERS, P.Z., TREVARROW, B., BASS, M.B., und KIMMEL, C.B. (1990): Primary neurons that express the L2/HNK-1 carbohydrate during early development in the zebrafish. *Development* 110:491-504
- MIKOL, D.D., WRABETZ, L., MARTON, L.S. und STEFANSSON, K. (1988): Developmental changes in the molecular weights of polypeptides in the human CNS that carry the HNK-1 epitope and bind *Phaseolus vulgaris* lectins. *Devl. Biol.* 139:100-120
- MILLER, M.R. und LAGIOS, M. D. (1970): The pancreas. In: Gans, C. (Hrsg): *Biology of the Reptilia*, Vol. 3, Morphology C. Academic Press, London and New York
- MINTON, S.A. und WEINSTEIN, S. (1987): Colubrid snake venoms: Immunological relationship, electrophoretic patterns. *Copeia*, 1987: 993-1000
- MONTALI, R.J. (1988): Comparative pathology of inflammation in the higher vertebrates (reptiles, birds, mammals). *J. Comp. Pathol.* 99:1-26
- MOOS, M., TACKE, R., SCHEERER, H., TELOW, D., FRUH, K., SCHACHNER, M. (1988): Neural adhesion molecule L1 as a member of the immunoglobulin superfamily with binding domains similar to fibronectin. *Nature* 334:701-703
- MOSCONA, A.A. (1990): Anatomy of the pancreas and Langerhans islets in snakes and lizards. *Anat. Rec.* 227: 232-244
- MOSCOSO, L.M., und SANES, J.R.(1995): Expression of four immunoglobulin superfamily adhesion molecules (L1, NrCAM, Bravo, Neurofascin/ABGP, and NCAM) in the developing mouse spinal cord. *J Comp Neurol* 352:321-334
- MUTSCHMANN, F. (1995): *Die Strumpfbandnattern*. Westarp Wissenschaften, Magdeburg
- MUTT, V. et al. (1989): *Neuropeptide Y*. 14th Nobel Symposium. Raven Press, New York
- NAULLEAU, G. (1998): Verbreitung und Populationsdynamik. In: Bauchot, R. (Hrsg): *Schlangen*, Weltbild Verlag GmbH, Augsburg
- NEWGREEN, D.F., POWEL, M.E., und MOSER, B. (1990): Spatiotemporal changes in HNK-1 / L2 glycoconjugates on avian embryo somite and neural crest cells. *Devl Biol.* 139 (1):100-120.
- NORDLANDER, R.H. (1989): HNK-1 marks earliest axonal outgrowth in *Xenopus*. *Dev. Brain. Res.* 50:147-153
- NORRIS, J.L. (1959): Normal histology of the esophageal and gastric mucosa of the frog, *Rana pipiens*. *J. exp. Zool.* 141, 155-174
- OLDHAM, J.C., SMITH, H.M. und MILLER, S.A. (1970): *A laboratory perspective of snake anatomy*. Stipes publishing company, Champaign, Illinois

- OLSEN, M., ZUBER, C., ROTH, J., LINNEMANN, D., BOCK, E. (1995): The ability to re-express polysialylated NCAM in soleus muscle after denervation is reduced in aged rats compared to young adult rats. *Int. J. Dev. Neurosci.* 13:97-104
- OLSSON, C. und GIBBINS, I. (1999): Nitric oxide synthase in the gastrointestinal tract of the estuarine crocodile, *Crocodylus porosus*. *Cell Tissue Res* 296:433-437
- OPPEL, A. (1896): Lehrbuch der vergleichenden mikroskopischen Anatomie der Wirbelthiere. Gustav Fischer, Jena
- OREZZOLI, A.A., VILLAR, M.J., GONZALEZ NICOLINI, V.G., HOKFELT, T. and TRAMEZZANI, J.H., et al. (1998): Neuropeptide Tyrosine-Like Immunoreactivity (NPY-LI) in Ganglion Neurons in the Adrenal Gland of the Flat Snake (*Waglerophis merremii*). *Biocell* 22:85-91
- OTTAVIANI, G. und TAZZI, A. (1977): The lymphatic system. In: Gans, C. (Hrsg): *Biology of the Reptilia*, Vol. 6, Academic Press, London and New York 315-463
- PARSONS, T.S., (1970): The nose and Jacobson's organ. In: Gans, C. (Hrsg): *Biology of the Reptilia*, Vol. 2, Academic Press, London and New York
- PARSONS, T.S. und CAMERON J.E. (1977): Internal relief of the digestive tract. In: Gans, C. (Hrsg): *Biology of the Reptilia*, Vol. 6, Academic Press, London and New York
- PEINAD, M.A., TORRES, M.I., THOMPSON, R.P., ESTEBAN, F.J. (2000): Immunolocalization of the HNK-1 epitope in the autonomic innervation to the liver and upper digestive tract of the developing rat embryo. *Histochem J.* 32:439-46.
- PESHEVA, P., HOROWITZ, A.F., and SCHACHNER, M. (1987): Integrin, the cell surface receptor for fibronectin and laminin, expresses the L2/HNK-1 family in cerebellar isografts in mice. *Brain Research* 488:265-274
- PETERS, G. (1985): Organkrankheiten. In: Ippen, R., Schröder H.D. und Elze, K. (Hrsg.): *Handbuch der Zootierkrankheiten*, Band 1, Reptilien, Akademie-Verlag, Berlin
- PETERS-VAN DER SANDEN M.J., LUIDER, T.M., VAN DER KAMP, A.W., TIBBOEL, D., MEIGERS, C. (1993): Regional Differences between various axial segments of the avian neural crest regarding the formation of enteric ganglia. *Differentiation* 53:17-24
- PLATEL, R. (1998): Nervensystem und Sinnesorgane. In: Bauchot, R.: *Schlangen*. Weltbild Verlag GmbH, Augsburg
- PLATTNER, H. und ZINGSHEIM, H.P. (1987): Elektronenmikroskopische Methodik in der Zell- und Molekularbiologie. Gustav Fischer, Stuttgart, New York
- POUGH, H, ANDREWS, M., CADLE, J.E., CRUMP, M.L., SAVITZKY, A.H. und WELLS, K.D. (1998): *Herpetology*. Prentice-Hall, Inc., New Jersey
- PORTER, K.R. (1972): *Herpetology*. Saunders, Philadelphia, London
- PREISLER, D. (2004): Alles über Schlangen. in: *Schlangen: Biologie, Haltung, Nachzucht.*, Draco. Jahrgang 5, 17, 4-21

- REIS, R.H. und LYONS, W. (1943): Histology of the small and large intestine of the common green snake, *Thamnophis sirtalis*. Wasmann Collect. 5: 81-88
- REYNOLDS, E.E. (1963): The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy. J Cell Biol. 17, 208-208
- RHEINHARD, W. und VOGEL, Z. (2000): Die Nattern. in: Grzimek, B: Enzyklopädie des Tierreichs, Band 6, Weltbild Verlag, Augsburg
- RICHARDSON, K.C., JARRET, L. und FINKE E.H. (1960): Embedding in Epoxy resins for ultrathin sectioning in electron microscopy. Stain Technol 35: 313-325
- ROHEN, J.W. und LÜTJEN-DRECOLL, E. (1996): Funktionelle Histologie: kurzgefaßtes Lehrbuch der Zytologie, Histologie und mikroskopischen Anatomie des Menschen nach funktionellen Gesichtspunkten. Schattauer, Stuttgart
- ROMEIS, B. (1989a): Fixierung histologischer Präparate. in: BÖCK, P. (Hrsg.): Romeis Mikroskopische Technik. 17. Auflage, Urban und Schwarzenberg, München, Wien, Baltimore
- ROMEIS, B. (1989b): Färben der Schnitte. in: BÖCK, P. (Hrsg.): Romeis Mikroskopische Technik. 179-249 17. Auflage, Urban und Schwarzenberg, München, Wien, Baltimore
- ROMEIS, B. (1989c): Untersuchung des Binde-und Stützgewebes. in: BÖCK, P. (Hrsg.): Romeis Mikroskopische Technik. 494-565 17. Auflage, Urban und Schwarzenberg, München, Wien, Baltimore
- ROMEIS, B. (1989d): Nachweis organischer Substanzen. in: BÖCK, P. (Hrsg.): Romeis Mikroskopische Technik. 431-450 17. Auflage, Urban und Schwarzenberg, München, Wien, Baltimore
- ROSENBERG, H.J., BDOLAH, A. und KOCHVA, E.(1985): Lethal factors and enzymes in the secretion from Duvernoy's gland of three colubrid snakes. J. Exp. Zool. 233: 5-14
- RUIZ, M.C., ACOSTA, A., ABAD, M.J. und MICHELANGELI, F.(1993a): Nonparallel secretion of pepsinogen and acid by gastric oxyntopeptice cells of the toad (*Bufo marinus*). Am J Physiol. 265:G934-41
- RUIZ, M.C., ABAD, M.J., GONZALEZ, B., ACOSTA, A., MICHELANGELI, F. (1993b): Comparison of acid and pepsinogen secretion control by oxyntopeptic cell of amphibians. Acta Cient Venez. 44:89-94
- SAVITZKY A.H. (1980): The role of venom delivery strategies in snake evolution. Evolution 34: 1194-1204
- SAND, J., ARVOLA, P., JÄNTTI, V., SINGARAM, C., BAER, G., PASRICHA, P.J., NORDBACK, I. (1997): The inhibitory role of nitric oxide in the control of porcine and human sphincter of Oddi activity. Gut; 41:375-380
- SASSENBURG, L. (2000): Beiträge zu den Erkrankungen der Geschlechtsorgane von Reptilien aus klinischer Sicht. Praktischer Tierarzt 81:2, 142-149
- SCHÄFER, K.H., HAGL, C.I., RAUCH, U. (2003): Differentiation of neurospheres from the enteric nervous system. Pediatr. Surg. Int. 19:340-4

- SCHAFFNER, F. (1998): The liver. in: Gans, C und Gaunt, A.S. (Hrsg.): Biology of the Reptilia, Vol. 19, Society for the Study of Amphibians and Reptiles, Ithaca, New York
- SCHALLING, M., FRANCO-CEREDA, A., HEMSEN, A., DAGERLIND, A., SEROOGY, K. PERSSON, H., HÖKFELT, T., LUNDBERG, J.M. (1991): Neuropeptide Y and catecholamine synthesizing enzymes and their mRNAs in rat sympathetic neurons and adrenal glands: studies on expression, synthesis and axonal transport after pharmacological and experimental manipulations using hybridization techniques and radioimmunoassay. Neuroscience 41:753-66
- SCHILDGER, B.J., HÄFELI, W., KRAMER, M., TENHU, H., WICKER, R. (2000): Die Anwendung bildgebender Verfahren zur Geschlechtsbestimmung von Reptilien. Praktischer Tierarzt 81:2,150-160
- SCHINDLER, A. L. (2005): Untersuchungen zur Bedeutung der NOS II an frühen neuronalen Differenzierungsprozessen - ein immunhistochemischer und funktioneller Versuchsansatz. Univ. Köln Diss.
- SCHULLER-PETROVIC, S., GEBHART, W., LASSMANN, H., RUMPOLD, H. und KRAFT, D. (1983): A shared antigenic determinant between natural killer cells and nervous tissue. Nature 1983 Nov 10-16; 306:179-81.
- SCHULTERBRANDT, T.G., KUBIE, J., VON GIZYCKI, H., ZURI, I. und HALPERN, M. (2008): Patterns of tongue-flicking by garter snakes (*Thamnophis sirtalis*) during presentation of chemicals under varying conditions. In: Hurst, J.L., Beynon, R.J., Roberts, S.C. und Wyatt, T.D. : Chemical Signs in Vertebrates 11 Springer, New York
- SCHUMACHER, S. (1927): Die Speiseröhre. In: von Möllendorf, W. (Hrsg): Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen. Bd 5, Springer Verlag, Berlin, 301-332
- SCHWIPPERT, W.W., BENEKE, T.W., EWERT, J.-P. (1995): Pretecto-tectal influences II. How retinal and pretectal inputs to the toad's tectum interact: a study of electrically evoked field potentials. J Comp Physiol A 176: 181-192
- SECOR, S.M., STEIN, E. D. und DIAMOND, J.(1994): Rapid upregulation of snake intestine in response to feeding: a new model of intestinal adaptation. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 266: G695-G705
- SECOR, S.M. und DIAMOND, J. (1997): Determinants of the postfeeding metabolic response of Burmese pythons, *Python molurus*. Physiol Zool. 70:202-12.
- SECOR, S.M. und DIAMOND, J. (1997): Effects of meal size on postprandial responses in juvenile Burmese pythons (*Python molurus*). Am J Physiol.272:R902-12
- SECOR, S.M. und DIAMOND, J. (2000): Evolution of regulatory responses to feeding in snakes. Physiol Biochem Zool.73:123-41
- SEDAR, A.W. (1955): The fine structure of parietal cells. Anat. Rec. 121:365
- SEDAR, A.W. (1957): Further studies on the fine structure of parietal cells. Anat. Rec. 127:482-483

- SEIGEL, R.A. und FORD N.B. (2001): Phenotypic Plasticity in Reproductive Traits: Geographical Variation in Plasticity in a Viviparous Snake. *Functional Ecology*, 15:36-42
- SIFRIM, D., JANSSENS, J. und VANTRAPPEN, G. (1992): A wave of inhibition precedes primary peristaltic contractions in the human esophagus. *Gastroenterology*; 103:876-82
- SILVA, A.P., XAPELLI, S., GROUZMANN, E. und CAVADAS, C. (2005): Up-regulation of neuropeptide Y and glutamate release through neuropeptide Y receptors in the hippocampus of kainate-induced epileptic rats. *J Neurochem* 93:163
- SKOCZYLAS, R. (1970): Influence of temperature on gastric digestion in the grass snake *Natrix Natrix*. *L. Comp. Biochem. Physiol.* 33:793-804
- SPÖRLE, H., KRAMER, M., GÖBEL, T. und GERWING, M. (1991): Sonoanatomy of snakes. DVG, 4. Internationales Colloquium für Pathologie und Therapie der Reptilien und Amphibien, Bad Nauheim, 139-143
- STALEY, F.H. (1925): A study of the gastric glands of Alligator mississippiensis. *J. Morph. Physiol.* 40:169-189.
- STARCK, J.M. und BEESE, K. (2001): Structural flexibility of the intestine of Burmese Python in Response to feeding. *J. Exp. Biol.* 204:325-335
- STARCK, J.M. und BEESE, K. (2002): Structural flexibility of the small intestine and liver of garter snakes in response to feeding and fasting. *J. Exp. Biol.* 205:1377-1388
- SUNDLER, F., MOGHIMZADEH, E., HAKANSON, R., EKELUND, M., EMSON, P. (1983): Nerve fibers in the gut and pancreas of the rat displaying neuropeptide-Y immunoreactivity. Intrinsic and extrinsic origin. *Cell Tissue Res.* 230:487-93.
- TAKEI, K., KITAMURA, K., BANNO, K. und UYEMURA, K. (1993): Major glycoproteins in carp CNS myelin: homology to P0 protein with HNK-1/L2 carbohydrate epitope. *Neurochem Int.* 23::239-48
- TATEMOTO, K. (1982): Neuropeptide Y: complete amino acid sequence of the brain peptide. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1982 September; 79:5485–5489
- THOR, G., PROBSTMEIER, R., SCHACHNER, M. (1987): Characterization of the cell adhesion molecules L1, NCAM and J1 in the mouse intestine. *EMBO* 6:2581-86
- TÖRÖ, E. (1930): Zur Frage der Darmresorption auf Grund von Untersuchungen am Krokodildarm. *Z. mikr-anat. Forsch* 19: 537-556
- TOLEDO, L.F., ABE, A.S., ANDRADE, D.V. (2003): Temperature and Meal Size Effects on the Postprandial Metabolism and Energetics in a Boid Snake. *Physiological and Biochemical Zoology* 76::240–246
- TRUTNAU, L. (1988): Schlangen. Band 1, Ulmer Verlag, Stuttgart
- TUCKER, G.C., AOYAMA, H., LIPINSKI, M., TURSZ, T. und THIERY, J.P. (1984): Identical reactivity of monoclonal antibodies HNK-1 and NC-1: conservation in vertebrates on cells derived from the neural primordium and on some leukocytes. *Cell Differentiation* 14:223-230

- TUCKER, G.C., CIMENT, G. und THIERY, J.P. (1986): Pathways of avian neural crest cell migration in the developing gut. *Devl. Biol.* 116:439-450
- TUCKER, G.C., DELARUE, M., ZADA, S., BOUCAUT, J.C. and THIERY J.P. (1988): Expression of the HNK-1 / NC-1 epitope in early vertebrate neurogenesis. *Cell Tissue Res.* 251:457-465
- UETZ, P. et al., The Reptile Database, <http://www.reptile-database.org>, accessed June 2007
- UNDERWOOD, G. (1967): A contribution to the classification of snakes. British Museum of Natural History, London zit. nach: KEIL, R. (1990)
- URSELL, P.C. und MAYES, M. (1995): Anatomic Distribution of nitric oxide synthase in the heart. *Int J Cardiol.* 50:217-223
- VANDERWINDEN, J.M., DE LAET, M.H., SCHIFFMANN, S.N., MAILLEUX, P., LOWENSTEIN, C.J., SNYDER, S.H., VANDERHAEGHEN, J.J.(1993): Nitric oxide synthase distribution in the enteric nervous system of Hirschsprung's disease. *Gastroenterology.* 105:969-973
- VANEY, D.I. und YOUNG,H.M.(1988): GABA-like immunoreactivity in NADPH-diaphorase amacrine cells of the rabbit retina. *Brain Res* 474:380-5.
- VEST, D. K. (1981): Envenomation following the bite of a wandering garter snake (*Thamnophis elegans vagrans*). *Clin Toxicol.* 18: 573-9
- VIDAL, N. (2002): Colubroid Systematics: Evidence for an early appearance of the venom apparatus followed by extensive evolutionary tinkering. *J. Toxicol. Toxin Rev.* 2002: 21-41
- VINCENT, S.R., SATOH, K., ARMSTRONG, D.M., FIBIGER, H.C. (1983a): Substance P in the ascending cholinergic reticular system. *Nature* 15-21; 306:688-91
- VINCENT, S.R., STAINES, W.A., FIBIGER H.C. (1983b): Histochemical demonstration of separate populations of somatostatin and cholinergic neurons in the rat striatum. *Neurosci Lett.* 35:111-4
- VINCENT, S.R., JOHANSSON, O., HÖKFELT, T., SKIRBOLL, L., ELDE, R.P., TERENIUS, L., KIMMEL, J., GOLDSTEIN, M. (1983c) NADPH diaphorase: a selective histochemical marker for striatal neurons containing both somatostatin and avian pancreatic polypeptide (APP)- like immunoreactivities. *J Comp Neurol* 217:252-63.
- VINCENT, M., DUBAND, J.L., und THIERY, J.P. (1983d): A cell surface determinant expressed early on migrating avian neural crest cells. *Dev. Brain Res.* 9:235-238
- VINCENT, S.R., SATOH, K., ARMSTRONG, D.M., PANULA, P., VALE, W., FIBIGER, H.C.(1986): Neuropeptides and NADPH diaphorase activity in the ascending cholinergic reticular system of the rat. *Neuroscience* 17:167-82.
- WEAVER, E.G. und VERNON, J.A. (1960): The problem of hearing in snakes. *J. Aud. Res.* 1: 77-83
- WEHRENFENNIG, S. (2002): Stickoxidsynthase im peripheren Nervensystem der Schildkröte *Trachemys scripta elegans*. FU Berlin, Diss.

WERNIG, A., DORLÖCHTER, M. (1989): Plasticity of the nerve muscle junction. Prog. Zool. 37:83-99

WRIGHT, R.D., FLOREY, H.W. and SANDERS, A.G. (1957): Observations on the gastric mucosa of Reptilia. Quart. J. exp. Physiol. 42:1-14

ZWART, P. (1984): Schlangen. In: Gabrisch, K. und Zwart, P. (Hrsg) Krankheiten der Heimtiere. Schlütersche Hannover

12 Abbildungsverzeichnis

Abb.1	<i>Thamnophis sirtalis sirtalis</i>	S. 6
Entnommen aus: MUTSCHMANN, F. (1995): Die Strumpfbandnattern. Biologie, Verbreitung, Haltung. Westarp Wissenschaften, Magdeburg		
Abb.2	Verbreitungsgebiet von <i>Thamnophis sirtalis</i>	6
Nach Hallmen, M., Chlebowy, J. (2001) Strumpfbandnattern Natur und Tier-Verlag, Münster S. 169		
Abb.3	Übersicht über die Verdauungsorgane der Schlangen	8
Aus: IPPEN, R., SCHRÖDER H,-D. und ELZE, K. (1985): Handbuch der Zootierkrankheiten, Band 1, Reptilien, Akademie-Verlag, Berlin		
Abb.4	Histologische Schichtung des Ösophagus, H.E.	41
a: Lamina epithelialis mucosae, b: Lamina propria mucosae, c: Lamina muscularis mucosae – innere Radiärmuskelschicht, d: Lamina muscularis mucosae, äußere Längsmuskelschicht, e: Tela submucosa, f: Tunica muscularis, innere Radiärmuskelschicht, g: Tunica muscularis, äußere Längsmuskel schicht		
Abb.5	Ösophagus – Epitheltyp 1, H.E.	42
a: Zilienbesatz der Epithelzellen, b: Kerne der Epithelzellen, c: Kerne der Becherzellen, d: runde, dicke Becherzellen		
Abb.6	Ösophagus – Epitheltyp 2, H.E.	42
a: Lumen, b: Zilienbesatz der Epithelzellen, c: Lamina epithelialis mit hohen, schlanken Becherzellen, d: Lamina propria mucosae		
Abb.7	Anzahl der Becherzellen auf einer Lumenlänge von 400 µm	43
Abb.8	Epithel des Ösophagus, Elektronenmikroskopie, 3000fach	45
a: Becherzelle, Schleimtyp 1, b: Becherzelle, Schleimtyp 2, c: Mikrovillibesatz, d: Epithelzelle, e: Kern einer Becherzelle mit Nucleolus		
Abb.9	Ösophagusepithel, Alzianblau-PAS	45
a: schleimgefüllte Becherzellen, b: Lamina propria mucosae, c: Gefäße		
Abb.10	Epithel des Ösophagus, Elektronenmikroskopie, 4400fach	46
a: schleimgefüllte Becherzelle, b: Epithelzelle mit Mikrovillibesatz, c: Zell-Zell Kontakte, d: Interzellularspalt		
Abb.11		

Nerv in Tunica muscularis, Elektronenmikroskopie, 12.000fach	47
a: Nervenfasern, b: dense core vesicle, c: Kern einer Schwann'schen Zelle	
Abb.12	
Ösophagus, NADPH-Diaphorase	48
a: Lamina epithelialis mucosae, b: Tela submucosa, c: Tunica muscularis, Pfeil: Präzipitatablagerung in der Lamina muscularis mucosae	
Abb.13	
Ösophagus, NADPH-Diaphorase	48
Schwarzer Pfeil: Nervenfasern in der Lamina propria mucosae, gelber Pfeil: Nervenfasern in der Tela submucosa	
Abb.14	
Ösophagus, HNK-1, Texasred	49
Tunica muscularis, äußere Längsmuskelschicht, b: Tunica muscularis: innere Radiärmuskelschicht, c: Auerbach-Plexus	
Abb.15	
Ösophagus, NF, Texasred	49
a: Tunica muscularis, äußere Längsmuskelschicht, b: Tunica muscularis, innere Radiärmuskelschicht, c: Auerbach-Plexus, d: Meissner-Plexus	
Abb.16	
Übergang Ösophagus-Magen, H.E.	51
a: Lumen, b: Magen mit Magendrüsen in Lamina propria, c: Ösophagus	
Abb.17	
Übergang Ösophagus – Magen, Alzianblau-PAS	51
a: Lumen, b: Magen mit Magendrüsen in Lamina propria, c: Ösophagus	
Abb.18	
Histologische Schichtung Magenfundus, Goldner	52
a: Epithel, b: Lamina propria mit Magendrüsen, c: Lamina muscularis mucosae, innere Radiärmuskelschicht, d: Lamina muscularis mucosae, äußere Längsmuskelschicht, e: Tela submucosa, f: Tunica muscularis, innere Radiärmuskelschicht, g: Tunica muscularis, äußere Längsmuskelschicht	
Abb.19	
Drüsen Magenfundus, H.E.	53
a: Epithel, b: Drüsenhalszellen, c: Drüsenkörper, d: Kapillare mit Erythrozyt, f: heterophiler Granulozyt, e: Lamina muscularis mucosae, g: Tela submucosa h: angedeutete foveolae gastricae	
Abb.20	
Magendrüsen, Alzianblau-PAS	54
a: Epithel Magenfundus, b: Drüsenhalszellen, c: Drüsenkörper, d: Kapillare mit Erythrozyt, e: Lamina muscularis mucosae, f: Heterophiler Granulozyt, g: Tela submucosa	

Abb.21	
Magendrösen, H.E.	54
a: Epithelzelle, b: schleimgefüllte Drüsenhalszellen, c: Drüsenkörper	
Abb.22	
Magendrösen, Toluidinblau	54
a: schleimgefüllte Drüsenhalszellen, b: Drüsenkörper	
Abb.23	
Magendrösen, Querschnitt, Elektronenmikroskopie, 3000fach	54
a: Zellkern, b: luminaler Mikrovillibesatz, c: Granula, d: Vesikel	
Abb.24	
Auerbach-Plexus, Magen, H.E.	56
a: Tunica muscularis, innere Radiärmuskelschicht, b: Auerbach-Plexus	
c: Tunica muscularis, äußere Längsmuskelschicht	
Abb.25	
Auerbach-Plexus, Elektronenmikroskopie 12000fach	57
a: Tunica muscularis, äußere Längsmuskelschicht, b: Auerbach-Plexus,	
c: dense core vesicles	
Abb.26	
Magenfundus, NADPH-Diaphorase	57
a: Epithel, b: Magendrösen der Lamina propria mucosae, c: Lamina	
muscularis mucosae, d: Tela submucosa, gelber Pfeil: Nervenfasern in	
der Lamina muscularis mucosae, schwarzer Pfeil: Präzipitatablagerungen	
über den Kapillaren zwischen den Drüsenhalszellen	
Abb.27	
Magen, Auerbach-Plexus, NADPH-Diaphorase	58
a: Tunica muscularis, innere Radiärmuskelschicht, b: Auerbach-Plexus,	
c: Tunica muscularis, äußere Längsmuskelschicht	
Abb.28	
Magen NF Texasred	58
a: Vene, b: Arterie, c: perivaskuläre Nervenfasern	
Abb.29	
Magen HNK-1 Texasred	59
a: Tunica muscularis, äußere Längsmuskelschicht, b: innere	
Zirkulärmuskelschicht, c: Auerbach-Plexus	
Abb.30	
Dünndarm, Alzianblau-PAS	60
a: Dünndarmepithel, b: Becherzellen mit verschiedenen Schleimqualitäten,	
c: heterophile Granulozyten, d: Tela submucosa	
Abb.31	
Dünndarmepithel, H.E.	61
a: schleimgefüllte Becherzelle, b: Mikrovilli, c: Lamina propria mucosae,	
d: mononukleäre Rundzelle	

Abb.32	
Dünndarm NF Texasred	62
a: Tunica muscularis, äußere Längsmuskelschicht, b: Tunica muscularis, innere Radiärmuskelschicht, c: Auerbach-Plexus	
Abb.33	
Dünndarm HNK-1 Texasred	63
a: Tunica muscularis, äußere Längsmuskelschicht, b: Tunica muscularis, innere Radiärmuskelschicht, c: Auerbach-Plexus, d: Meissner-Plexus	
Abb.34	
Dickdarm, H.E.	64
a: Epithel, b: Tela submucosa, c: Tunica muscularis, d: Heterophile Granulozyten	
Abb.35	
Dickdarmepithel, Alzianblau-PAS	65
a: Epithel, b: Becherzellen mit verschiedenen Schleimqualitäten, c: Tela submucosa	
Abb.36	
Dickdarmepithel, Mikrovilli, Elektronenmikroskop 30000fach	65
a: Lumen, b: Mikrovilli, c: Enterozyt	
Abb.37	
Dickdarm, NADPH-Diaphorase	67
a: Epithel, b: Tela submucosa, c: Tunica muscularis, innere Radiärmuskelschicht, d: Tunica muscularis, äußere Längsmuskelschicht, e: Auerbach-Plexus, gelber Pfeil: Nervenfasern in der Lamina propria mucosae, schwarzer Pfeil: Nervenfasern in der Tela submucosa	
Abb.38	
Dickdarm NF Texasred	68
a: Tunica muscularis, äußere Längsmuskelschicht, b: Tunica muscularis, innere Radiärmuskelschicht, c: Meissner-Plexus, d: Auerbach-Plexus	
Abb.39	
Dickdarm HNK-1 Texasred	68
a: Tunica muscularis, äußere Längsmuskelschicht, b: Tunica muscularis, innere Radiärmuskelschicht, c: Tela submucosa, d: Auerbach-Plexus, e: Meissner-Plexus	

Tabelle 3 Anzahl der Becherzellen auf 400 µm Lumenlänge

Anzahl Becherzellen auf 400 µm in	Ösophagus			Magen- eingang	Magen Fundus	Magen Pylorus	Dünndarm			Dickdarm		
	kranial	mitte	kaudal				kranial	mitte	kaudal	kranial	mitte	kaudal
Tier 1												
	Präp. 1	54	119	83	94	0	41	32	24	41	40	39
	Präp. 2	54	122	124	126	0	39	37	21	34	49	41
	Präp. 3	60	128	125	124	0	36	35	17	33	43	42
Tier 2												
	Präp. 1	61	136	122	125	0	32	26	24	23	41	41
	Präp. 2	66	142	129	118	0	27	32	19	32	46	51
	Präp. 3	65	126	138	119	0	31	35	27	25	51	48
Tier 3												
	Präp. 1	79	68	108	119	0	31	31	48	57	62	77
	Präp. 2	58	89	98	115	0	33	43	29	56	58	73
	Präp. 3	64	94	105	114	0	32	34	47	60	53	69
Tier 4												
	Präp. 1	63	78	103	102	0	29	44	37	41	51	66
	Präp. 2	54	73	108	109	0	31	35	46	36	49	43
	Präp. 3	53	72	113	113	0	33	38	42	39	41	59
Tier 5												
	Präp. 1	64	81	106	103	0	21	43	49	48	48	53
	Präp. 2	57	75	119	109	0	23	39	43	42	42	55
	Präp. 3	59	74	113	107	0	29	39	38	35	35	52
Gesamtsumme		911	1477,00	1694	1697	0	468	543	511	602	709	809
Mittelwert		60,73	98,47	112,93	113,13	0,00	31,20	36,20	34,07	40,13	47,27	53,93
Standardabweichung		6,69	26,95	13,76	9,20	0,00	5,25	4,99	11,53	11,08	7,22	12,43

Ich erkläre: Ich habe die vorgelegte Dissertation selbständig und ohne unerlaubte fremde Hilfe und nur mit den Hilfen angefertigt, die ich in der Dissertation angegeben habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder nicht veröffentlichten Schriften entnommen sind, und alle Angaben, die auf mündlichen Auskünften beruhen, sind als solche kenntlich gemacht.

Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis, wie sie in der „Satzung der Justus-Liebig-Universität Gießen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis“ niedergelegt sind, eingehalten.

Köln, d. 12.03.2009

Katja Teschner